E. J. Butler

BEITRAG

ZUR

KENNTNISS DER VERBREITUNG UND DER BEDEUTUNG DER MYKORHIZEN.

INAUGURAL-DISSERTATION

ZUR

ERLANGUNG DER DOCTORWUERDE

VORGELEGT DER

HOHEN PHILOSOPHISCHEN FACULTAET

DER

UNIVERSITAET ERLANGEN

VON

ALBERT SCHLICHT
AUS STRALSUND.

MIT EINER TAFEL.

BERLIN 1889.
DRUCK VON GEBR. UNGER, SCHOENEBERGERSTRASSE 17a.

Seinen theuren Eltern

in Liebe und Dankbarkeit

gewidmet

vom

Verfasser.

Inhaltsangabe.

Seite

I. Einleitung 7

II. Beschreibung einiger neuer Mykorhizen 11

III. Vergleichung der neuen Mykorhizen mit den bereits früher bekannten 19

IV. Verbreitung der neuen Mykorhizen nach Pflanzenfamilien 24

V. Beziehungen des Vorhandenseins oder Fehlens der Mykorhizen zu äusseren Verhältnissen 28

Untenstehende Arbeit wurde im pflanzenphysiologischen Institute der Königlichen landwirthschaftlichen Hochschule in Berlin ausgeführt und dankt Verfasser auch hier Herrn Professor A. B. FRANK für freundlich gebotene Rathschläge und gütigst ertheilte Belehrung.

I. Einleitung.

Wohl kaum ist in der jüngsten Zeit eine Frage aufgetaucht, welche für die Pflanzenphysiologie und für die Landwirthschaft ein so grosses Interesse beansprucht als die der Ernährung der Pflanzen durch Hilfe von Pilzen, welche im Erdboden vorhanden sind. Wir kennen durch FRANK Fälle, wo die ernährenden Pilze auf das deutlichste an den Pflanzenwurzeln zu finden sind. Aber man hat auch bei anderen Pflanzen, namentlich Leguminosen, Beobachtungen gemacht, nach denen die Zugabe einer kleinen Menge gewisser Kulturböden zu einem wenig ertragreichen Boden gleichsam wie ein Ferment die Fruchtbarkeit desselben erhöht, ohne dass hier bis zur Stunde die etwa betheiligten Pilze unzweifelhaft haben nachgewiesen werden können.

Wie bereits in einer kurzen Mittheilung in den Berichten der Deutschen Botanischen Gesellschaft (Jahrgang 1888, Heft 7) bekannt gegeben, habe ich bei Gelegenheit von anatomischen Wurzelstudien, mit denen ich mich im Pflanzenphysiologischen Institute der Landwirthschaftlichen Hochschule in Berlin unter Leitung des Herrn Professor Dr. B. FRANK beschäftigte, gefunden, dass die Saugwurzeln von Ranunculus acris L. in wohlausgebildete Mykorhizen übergegangen sind. Auf diesen Befund hin habe ich weitere Untersuchungen vorgenommen und bin dabei zu dem Resultate gekommen, *dass die Symbiose zwischen Wurzeln und Pilzen eine ungeahnte Verbreitung über unsere Flora hat.*

Bevor ich auf meine eigenen Beobachtungen eingehe, will ich in gedrängter Uebersicht das zusammenfassen, was bis jetzt über dieses interessante Thema bekannt ist.

Pilze in lebenden Pflanzenwurzeln sind schon längst beobachtet worden. Dies gilt besonders von den in den Wurzeln und Rhizomen der Orchideen sehr verbreiteten Pilzmycelien, worüber bei WAHRLICH (zur Kenntniss der Orchideenwurzelpilze. Botanische Zeitung 1886) die bisherige Litteratur zusammengestellt sich findet.

Die Verpilzung der Coniferenwurzeln, insbesondere derjenigen der Kiefer

an den Orten, wo Elaphomyces vorkommt, ist zuerst von REESS (Sitzungsberichte der Physicalisch-Medicinischen Societät zu Erlangen 16. Mai 1880) genau beschrieben worden.

GIBELLI (Nuvoi studi sulla malattia del Castagno detta dell' inchiostro. Bologna 1883) konstatirte die Wurzelverpilzung bei den Edelkastanien in Italien und sah den Pilz für die Ursache der sogenannten Tintenkrankheit der Edelkastanien an.

KAMIENSKI (Mémoires de la société nationale des sciences naturelles de Cherbourg, Band 24), welcher die Verpilzung der Wurzeln der chlorophyllosen Monotropa hypopitys konstatirte, hat für diese Pflanze den Gedanken einer Symbiose zwischen Pilz und Wurzel behufs Nahrungszufuhr ausgesprochen. Dagegen sieht er in den an Baumwurzeln beobachteten Pilzen schädliche Parasiten.

Erst FRANK (Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft, Jahrgang 1885, Heft 4 und Heft 11, Jahrgang 1887, Heft 8 und Jahrgang 1888, Heft 7) ist es nach vielen umfassenden Arbeiten gelungen, die eigentliche Bedeutung der Wurzelpilze für das Leben mancher Pflanzen nachzuweisen und das Verhältniss einer Symbiose zwischen Wurzelpilz und Pflanze festzustellen, und zwar zunächst für gewisse Arten unserer Waldbäume, die Cupuliferen, die Coniferen und Salicineen, sodann auch für die Ericaceen und Orchideen.

Dann hat REES (Untersuchungen über Bau und Lebensgeschichte der Hirschtrüffel (Elaphomyces, Bibliotheka botanica, Heft 7, 1887) das Vorkommen von Mykorhizen an verschiedenen Kiefern bestätigt und neu gefunden die Verpilzung einer unbekannten Moncotylen-Wurzel (Quecke?). Auch hat derselbe einen eigenartigen gelben Kiefernwurzelpilz gefunden.

Für die nachfolgende kurze Zusammenstellung der von FRANK gewonnenen Resultate bediene ich mich zum Theil seiner eigenen Worte.

Derselbe erkannte zuerst, *dass gewisse Baumarten, vor allen die Cupuliferen, ganz regelmässig sich im Boden nicht selbstständig ernähren, sondern überall in ihrem gesammten Wurzelsystem mit einem Pilzmycelium in Symbiose stehen, welches ihnen Ammendienste leistet und die ganze Ernährung des Baumes aus dem Boden übernimmt. Die nahrungaufnehmenden Organe sind dann nicht mehr Wurzeln allein, sondern eine Vereinigung zweier verschiedener Wesen zu einem einheitlichen morphologischen Organe, der Pilzwurzel oder Mykorhiza.*

Es ist also unter Mykorhiza die feste Vereinigung der lebenden feinen Saugwurzeln der Pflanzen mit einem Pilzmycelium zu verstehen, eine Vereinigung, von der die Pflanzen den allergrössten Nutzen haben.

Für die physiologische Bedeutung der Mykorhiza hat FRANK bereits im Jahre 1885 folgende Thesen aufgestellt:

1. Die Mykorhiza ist ein symbiotisches Verhältniss, zu welchem vielleicht alle Bäume unter gewissen Bedingungen befähigt sind.

2. Die Mykorhiza bildet sich nur in einem Boden, welcher humöse Bestandtheile oder unzersetzte Pflanzenreste enthält; mit der Armuth oder dem Reichthum an diesen Bestandtheilen fällt oder steigt die Entwickelung der Mykorhiza.

3. Der Pilz der Mykorhiza führt dem Baume ausser dem nöthigen Wasser und den mineralischen Bodennährstoffen auch noch organische, direkt aus dem Humus und den verwesenden Pflanzenresten entlehnte Stoffe zu. Zu dieser unmittelbaren Wiederverwerthung organischer vegetabilischer Abfälle für die Ernährung wird der Baum nur durch den Mykorhizapilz befähigt.

4. Die in der pflanzlichen Ernährungslehre veraltete Theorie der direkten Ernährung grüner Pflanzen durch Humus wird daher durch die Mykorhiza der Bäume, wenn auch in damals ungeahntem, anderem Sinne wieder erneuert.

5. Die Bedeutung des Humus und der Laubstreu für die Ernährung des Waldes erlangt hierdurch eine neue theoretische Begründung.

6. Wie die Mykorhiza-Ernährung hauptsächlich da von Bedeutung ist, wo es, wie bei der Ernährung der pflanzlichen Riesenkörper, also der Bäume, auf die Produktion grösster Quantitäten vegetabilischen Stoffes ankommt, und wo also die unmittelbare Wiederverwerthung der unvermeidlichen vegetabilischen Abfälle, wenn auch nicht nothwendig, aber doch äusserst vortheilhaft ist, so kann die Mykorhiza ihren Dienst auch da leisten, wo diese Ernährung aus Humus wegen Chlorophyllmangels der Pflanze zur Nothwendigkeit wird, z. B. bei Monotropa hypopitys.

Es ist vielleicht nicht ungerechtfertigt, diese Thesen auch auf die nachher bekannt gewordenen Fälle einer Symbiose zwischen Pilz und Wurzeln, auf die Mykorhizen der Salicineen, Ericaceen und Orchidaceen auszudehnen und entsprechend zu modifiziren.

Die Gründe, die zur Aufstellung dieser Thesen veranlasst haben, sind folgende:

1. Die Art der Vereinigung von Pilz und Wurzel zur Mykorhiza. Der Pilz ist ausschliesslich mit den feinen Saugwurzeln und mit diesen stets in einer solchen Orientirung eng verbunden, dass er nothwendig die Vermittelung zwischen den aufzunehmenden Stoffen und der Leitungsbahn der Wurzeln übernehmen muss.

2. Das regelmässige Vorhandensein in allen Lebensaltern und an allen Wurzeln der betreffenden Pflanzen.

3. Die Abhängigkeit vom Humusgehalt des Bodens. Die Mykorhizen finden sich stets nur da, wo abgestorbene und verwesende Pflanzentheile, besonders Baumhumus vorhanden ist. Sie entwickeln sich aber nicht, wo diese Stoffe fehlen, wo sie also nicht ihre Funktion als humusassimilirende Organe verrichten können, und sind dann ersetzt durch die gewöhnlichen Saugwurzeln, wie z. B. bei der gemeinen Kiefer im humuslosen märkischen Sande.

4. Die Verbreitung der Mykorhizen über alle Bodenarten, die Humus enthalten, und die geographische Verbreitung des Wurzelpilzes. Es haben sich stets und überall als nahrungsaufnehmende Organe der betreffenden Pflanzen Mykorhizen gefunden.

Für das Verhältniss zwischen Wurzeln und Pilzen sind nur drei Erklärungen möglich. Entweder sind die Pilze Schmarotzer der höher organisirten Pflanzen, oder umgekehrt diese Parasiten der Pilze, oder es liegt eine Wechselbeziehung zwischen Pilzen und den betreffenden Pflanzen vor.

Dass die Pilze nicht blosse Parasiten der Bäume, sowie der anderen Pflanzen sind, geht aus verschiedenen Umständen hervor. Stets sind sowohl das Wurzelsystem, als auch die Pflanzen selbst in gutem Gedeihen gefunden worden, und dadurch ist doch schon mit Sicherheit die Abwesenheit eines perniciösen Parasitismus bewiesen. Anderseits sprechen auch das geringe Wachsthum des Mykorhizenpilzes, welches immer mit dem der Wurzel Schritt hält, wie auch das Beschränktsein des Pilzes auf die feinen Wurzeln, sowie endlich das regelmässige Vorhandensein der Pilze auf und in den Saugwurzeln in allen Gegenden sehr dafür, dass ein Parasitismus seitens der Pilze nicht vorliegt. Ein parasitischer Pilz würde seine Thätigkeit noch auf andere Pflanzen-

theile ausdehnen. Auch würde ein parasitischer Pilz nicht in jeder Jahreszeit und in allen möglichen, örtlich sehr weit von einander entfernten Gegenden in jeder Wurzel der betreffenden Bäume zu finden sein, sondern es würde sein Auftreten ein unregelmässiges und mehr zufälliges sein. Besonders aber wird durch den Umstand, dass die Mykorhizen einer Pflanze, wenn dieselben in einen humusfreien Boden kommen, in gewöhnliche, also pilzfreie Saugwurzeln sich verwandeln, mit grösster Sicherheit bewiesen, dass *die Mykorhizapilze nicht in der lebenden Pflanzenwurzel ihre Lebensbedingungen finden, sondern vielmehr in gewissen Beschaffenheiten des Bodens, und dass es vor allen Dingen der Humus ist, von welchem die Anwesenheit dieser Pilze und der von ihnen gebildeten Mykorhizen abhängt.* Ein Parasitismus der Pilze auf den Pflanzen liegt also nicht vor.

Sprechen schon diese Thatsachen sehr dafür, dass die Pflanzen Nutzen von den Pilzen haben, so ist die grosse Bedeutung der Mykorhizen für die Ernährung der Bäume von FRANK auch schon experimentell bewiesen worden durch Parallelkulturen von Buchen mit Mykorhizen und solchen mit gewöhnlichen Saugwurzeln. Da die Verpilzung der Wurzeln, also die Umwandlung derselben in Mykorhizen von aussen vor sich geht, also durch Pilzkeime, die im Boden vorhanden sind, hervorgerufen wird, können die Pilzwurzeln sich nicht bilden, wenn der Boden von den Pilzkeimen befreit ist. Es wurden nun etwas angekeimte Buchenkerne theils in gewöhnlichen, gesiebten, humusreichen Waldboden, theils in denselben, aber vorher durch längeres Erhitzen bei 100° sterilisirten Boden gepflanzt. Trotzdem der Boden durch das Sterilisiren bedeutend aufgeschlossen war (das wässrige Extrakt aus diesem Boden enthielt weit mehr Gelöstes, als ein Extrakt aus der gleichen Menge des nicht sterilisirten Bodens), sind doch die in dem sterilisirten Boden gezogenen Pflänzchen entweder ausgegangen oder doch in der Entwickelung weit zurückgeblieben, gegenüber den gleichzeitig ausgepflanzten und unter sonst gleichen Bedingungen im nicht sterilisirten Boden gezogenen. Die nahrungaufnehmenden Organe der ersteren bestanden aus gewöhnlichen nicht verpilzten Saugwurzeln, während bei letzteren wohl ausgebildete Mykorhizen vorhanden waren.

Wenn man die so bewiesene Nothwendigkeit des Mykorhizenpilzes für das Gedeihen der Buchen in Betracht zieht, dürfte man sich bewegen lassen, anzunehmen, dass nicht nur nicht der Wurzelpilz Parasit der Bäume ist, sondern dass umgekehrt der betreffende Baum durch den saprophyten Pilz parasitisch ernährt wird. Jedoch liegt auch nicht ein reiner Parasitismus seitens der höher organisirten Pflanze vor, sondern es ruft der Wurzelpilz selbstständig die Mykorhizenbildung hervor, indem er sich mit den Saugwurzeln zu einem einheitlichen morphologischen Organ verbindet. Man hat es also mit einer wirklichen Symbiose zwischen Pilz und Pflanze zu thun, einem Wechselverhältnisse, wie es früher nur bekannt war bei den Gonidien der Flechten und zwischen einigen höheren Pflanzen und in ihnen eingeschlossenen niederen Algen, z. B. zwischen Gunnera und Nostoc. Welche Gegenleistungen der Mykorhizenpilz von den Pflanzen empfängt, ist noch nicht bekannt, man weiss nicht, ob der Pilz von den Pflanzen ebenfalls Nährstoffe bezieht, oder ob er andere Vortheile hat, sei es chemischer, sei es physikalischer oder auch mechanischer Natur.

Eine Vorstellung davon, wie der Mykorhizenpilz auf den Humus einwirkt, und wie es ihm dadurch möglich ist, zur Ernährung der Pflanzen beizutragen,

erlangt man durch die Betrachtung des Humus mittelst des Mikroskopes. *Der Humus erweist sich dabei keineswegs nur als ein Trümmerhaufen einstiger Pflanzentheile in verschiedenen Zuständen der Humificirung, sondern er ist zum Theil eine lebende Masse von zahllosen Pilzfäden, welche ihn nach allen Richtungen durchsetzen und oft einen wesentlichen Theil seiner organischen Substanz ausmachen.* Diese Humuspilze findet man, wo Mykorhizen in der Nähe sind, in Menge mit letzteren in Zusammenhang.

Aus den angeführten Gründen ergiebt sich also, dass der saprophyte Wurzelpilz in einem mutualistischen Verhältnisse zu der Pflanzenwurzel lebt, dass er mit den Pflanzenwurzeln eingeschlossenes Ganze, die Mykorhiza bildet, und dass diese Mykorhizen die direkte Ernährung der Pflanzen aus dem Humus bewirken.

Auf eine Beschreibung der bisher bekannten Mykorhizenformen bei den Cupuliferen, Coniferen und Erikaceen und Orchidaceen will ich nicht eingehen, dieselben sind ausführlich geschildert in den zu Anfang angeführten Mittheilungen FRANK's in den Berichten der Deutschen Botanischen Gesellschaft. Ich will an dieser Stelle nur hervorheben, dass der ernährende Pilz bald die Wurzeln mantelartig umkleidet, indem sein Pseudoparenchym mit der Epidermis innig verwachsen ist, oder dass er mit seinem Gewebe bestimmte Zellen im Innern des Wurzelkörpers anfüllt, bald Epidermis- bald Rindenzellen. Hiernach sind die Mykorhyzen von FRANK in ektotrophische und endotrophische unterschieden worden.

II. Beschreibung einiger neuer Mykorhizen.

Die von mir gefundenen Mykorhizen sind sämmtlich endotrophisch und zwar von der für die Orchidaceen charakteristischen Form.

Ich werde zunächst einige derselben beschreiben unter Berücksichtigung der anatomischen und morphologischen Verhältnisse der Wurzeln, aus denen sie entstanden sind und zwar an Paris quadrifolia, Ranunculus acris, Holcus lanatus und Leontodon auctumnalis.

1. *Paris quadrifolia.* Das Material zu den Untersuchungen entstammt sehr humusreichen Stellen in Wäldern bei Putbus auf Rügen und bei Tegel bei Berlin, und ist zu verschiedenen Jahreszeiten, zur Zeit der Blüthe, sowie der Fruchtreife im Juli und August und nach dem Verwelken im September entnommen worden. An dem kriechenden Wurzelstock sitzen die Wurzeln, die bis 20 *cm* lang sind und einen Durchmesser von 0,5—0,7 *mm* besitzen. Die Wurzeln verzweigen sich nur selten und es sind alsdann die Verzweigungen fast ebenso stark als die eigentlichen Wurzeln. Alle Wurzeln verjüngen sich nach dem Vegetationspunkte zu nur ganz unbedeutend, und zeigen auf den Querschnitten bis zur unmittelbarsten Nähe der Wurzelspitze stets denselben anatomischen Bau (Figur 1). Zwischen den Strahlen des aus wenigen Gefässen bestehenden triarchen oder tetrarchen Holzkörpers liegt das Phloëm und der so gebildete Strang wird umgeben von dem Pericambium und der Endodermis (*En.*)

Die Rinde wird gebildet von zwei oder drei inneren Schichten (*r*) mit ziemlich dicken Wandungen, zwei Zellreihen mit dünnen Wandungen, der subepidermalen Zellschicht (*s S*) und der Epidermis (*Ep.*). Die Zellen der

innersten Rindenschicht sind ein wenig tangential gestreckt und haben einen radialen Durchmesser von 20—30 μ, die Zellen der zweiten und dritten Schicht erscheinen auf dem Querschnitt isodiametrisch und haben einen Durchmesser von 30—40 bisweilen auch bis 50 μ. Diese dickwandigen Zellen machen auf den ersten Blick hin den Eindruck von Verstärkungen der Endodermis, jedoch spricht gegen diese Auffassung das chemische Verhalten ihrer Zellmembranen. Während die Wände der Endodermiszellen auf Zusatz von Jod-Schwefelsäure, Chlorzinkjod oder Chromsäure stets die Reaktion einer Cuticula geben, zeigen die Membranen, sowohl der dickwandigen, als auch der dünnwandigen Rindenzellen stets das Verhalten von Cellulose. Die Zellen der auf die dickwandigen Rindenzellen folgenden Schicht sind schon grösser, sie erscheinen auf dem Querschnitt ebenfalls isodiametrisch, ihr Durchmesser beläuft sich meistens auf 50 μ. Besonders gross sind die auf dem Querschnitt etwas radial gestreckten Zellen der nun folgenden Reihe, dieselben haben einen radialen Durchmesser von 60—80 μ. An diese Zellreihe schliesst sich nach aussen die subepidermale Schicht und die Epidermis. Die Zellen dieser Schichten erscheinen auf dem Querschnitt isodiametrisch fünf- bis sechseckig. Die Zellen der subepidermalen Schicht besitzen einen radialen Durchmesser von 20—30 μ, die der Epidermis einen von 30—40 μ. Die äusseren Membranen der Epidermiszellen sind nur ganz unwesentlich verdickt. Die Zellen der Epidermis sind recht häufig zu Wurzelhaaren ausgewachsen, die in der Regel 15—20 μ stark sind. In der Nähe des Vegetationspunktes sind die dickwandigen Rindenzellen von kleinerem Durchmesser, auch sind in unmittelbarster Nähe desselben noch nicht alle dickwandigen Rindenzellschichten entwickelt.

Auf dem Längsschnitt sieht man, dass die Zellen der Epidermis, der subepidermalen Schicht und der innersten Rindenschichten das Mehrfache, die weiten dünnwandigen Rindenzellen aber das anderthalb- bis zweifache ihres Querdurchmessers lang sind.

Die Membranen der Wurzelhaare und der Zellen der Epidermis und der subepidermalen Schicht sind äusserst widerstandsfähig gegen die Einwirkung von conzentrirter Schwefelsäure und conzentrirter Chromsäurelösung, auch färben sie sich auf Zusatz von Jod-Schwefelsäure in der Regel nicht blau, dagegen werden sie meistens durch Chlorzinkjod gebläut.

Der Vegetationspunkt ist ganz normal angelegt und mit gut entwickelter Wurzelhaube umkleidet.

Die dünnwandigen Rindenzellen sind in der Nähe des Vegetationspunktes reichlich mit gewöhnlichem Protoplasma gefüllt und besitzen einen grossen Zellkern. Im Folgemeristem wird das Plasma allmählich wandständig, und in Folge dessen sitzt auch der Zellkern der Wandung an. Die dickwandigen Rindenzellen sind von einiger Entfernung vom Vegetationspunkte an meistens vollgepfropft mit kleinen rundlichen oder länglichen Stärkekörnern.

Diese Wurzeln nun befinden sich in ausgeprägter Weise in Symbiose mit einem Pilze und zwar in allen wesentlichen Eigenthümlichkeiten der endotrophischen Mykorhiza. Es verlohnt sich daher, die Verpilzung an dieser Wurzel besonders zu studiren. Die nun folgenden Beschreibungen geben das Gesammtresultat der Untersuchungen, die an dem verschiedenen Orten entstammenden und zu verschiedenen Zeiten gesammelten Wurzelmaterial vorgenommen sind.

Man sieht bei schwächerer Vergrösserung auf dem Querschnitt (Fig. 1) die dünnwandigen Rindenzellen mit einer eigenthümlichen körnigen Masse von

unbestimmter Form entweder ganz oder zum Theil gefüllt. Bei Anwendung von stärkerer Vergrösserung erkennt man, dass diese Massen aus mehr oder weniger deutlich unterscheidbaren Pilzfäden bestehen, die in dichtem Gewirr unter theilweiser Verschmelzung ihrer Membramen die grossen Rindenzellen ausfüllen. In den Rindenzellen mit dicker Membran, sowie in den Zellen der Epidermis und der subepidermalen Schicht findet man nur sehr selten Pilze und dann stets nur einzelne Fäden. Man sieht sowohl auf den Querschnitten, als auch auf den Längsschnitten (Fig. 3, 4, 5 und 6), dass die Pilzmassen der einzelnen Zellen unter sich durch Fäden, die die Zwischenwände durchbohren, in Verbindung stehen, und es ergiebt sich daraus, dass die Pilzmassen gewissermassen ein zusammenhängendes Ganze bilden, welches den Wurzelstrang umschliesst und von diesem nur durch die dickwandigen Rindenzellen getrennt ist. Man findet diese Verpilzung nicht bei jeder Wurzel, auch sind die Wurzeln nicht immer in ihrer ganzen Länge verpilzt. Junge Wurzeln von 1—5 *cm* Länge habe ich häufiger vollständig pilzfrei gefunden, ältere Wurzeln waren stets wenigstens partiell mit Pilzgewebe durchwuchert.

Hervorgerufen wird die Verpilzung durch Infektion von aussen, wie an mehreren jüngeren Wurzeln mit Sicherheit konstatirt werden konnte. Es dringen die Pilze durch die Intercellularsubstanz der Epidermiszellen und der subepidermalen Schicht hinein in die grossen dünnwandigen Rindenzellen und entwickeln sich hier, von Zelle zu Zelle weiter wachsend, sehr üppig, fortwährend bleiben aber die Pilzmassen durch intercellular sich hinziehende Pilzschläuche mit der Umgebung der Wurzel in Verbindung. In den Figuren 2 und 3 sieht man das Eindringen von Pilzfäden in die Wurzel wiedergegeben. In Figur 2 ist ein Stück der Oberfläche einer Pariswurzel dargestellt. Man sieht einen braunen Pilzfaden auf der Oberfläche hinkriechen, sich senkrecht hineinzwängen durch die Intercellularsubstanz der radialen Wände und sich nachher verbreiten in der tangentialen Wandung zwischen den Zellen der Epidermis und der subepidermalen Schicht. Figur 3 zeigt einen diagonalen Längsschnitt durch Zellen der Epidermis und der Subepidermis und der folgenden Rindenzellschicht. Auch hier sieht man, wie der Pilzfaden sich durch die Intercellularsubstanz der Epidermis und der subepidermalen Schicht hinzieht, und wie er dann eindringt in eine der dünnwandigen Rindenzellen, hier zu einem dicht verschlungenen Faden sich entwickelt und die Querwand durchbohrend in die benachbarte Rindenzelle hinein weiterwächst. Der in dieser Figur dargestellte Schnitt entstammt einer nur an dieser einen Stelle verpilzten Wurzel.

An anderen jungen Wurzeln habe ich mehrere mit Pilzgewebe durchwucherte Stellen gefunden, die durch pilzfreies Gewebe von einander getrennt und alle durch Infektion von aussen entstanden waren. Die älteren Wurzeln waren stets durch und durch in den bezeichneten Rindenzellen mit Pilzgewebe erfüllt, bis auf den jüngsten Theil der Wurzeln und zwar, wie Messungen des Längsdurchmessers der Zellen ergeben haben, erstreckte sich die Durchwucherung bis zum Folgemeristem. Letzteres hat sich stets frei von Verpilzung gezeigt.

Querschnitte von pilzfreien Stellen zeigen stets denselben anatomischen Bau, wie die mit Pilzgewebe gefüllten, und namentlich sind die Grössenverhältnisse der Zellen der verschiedenen Rindenschichten stets dieselben. Letzterer Umstand ist deshalb besonders hervorzuheben, weil durch ihn nach-

gewiesen wird, dass die Grösse der mit Pilzgewebe erfüllten Zellen nicht etwa eine krankhafte, durch die Pilze hervorgerufene Erweiterung der Zellen ist, wie sie sonst wohl durch schmarotzende Pilze verursacht wird. Es ergiebt sich vielmehr daraus, dass die Pilze aus irgend einem Grunde gerade die weiten Rindenzellen hauptsächlich mit ihrem Mycelium angefüllt haben.

Die Pilzfäden besitzen meistens einen Durchmesser von 4—8 μ. Ausserhalb der Wurzel sind sie häufig mehr oder weniger braun gefärbt, wie ja auch schon bei der Schilderung des Eindringens eines Pilzfadens in die Wurzel (Fig. 2) erwähnt ist. Die im Innern der Pflanze befindlichen Pilzfäden sind stets mit fast farbloser und sehr zarter Membran umkleidet und nur sehr selten durch Querwände getheilt. Häufig sind die Pilzfäden blasig und kugelig angeschwollen und geben dann recht mannigfache Bilder, wie einige in den Figuren 5, 6 und 7 dargestellt sind. Der Inhalt der Pilzfäden ist bald ein gleichmässiger, bald erscheint er emulsionsartig und er enthält dann Oeltropfen von verschiedener Grösse durch die ganze Masse gleichmässig vertheilt. Durch theilweises Verschmelzen der Membranen entstehen aus den Pilzhyphen dichte Massen von unbestimmter, meistens blumenkohlartiger Form, die nicht immer ihren Ursprung aus Pilzfäden erkennen lassen. Dieselben sind zunächst farblos, färben sich erst hellgelb, dann aber immer dunkler, bis sie schliesslich gelbbraune Klumpen bilden. Diese Uebergänge kann man häufig an ein und derselben Wurzel beobachten. Während die mit Pilzgewebe gefüllten Zellen, die dem Vegetationspunkte mehr genähert sind, das Pilzmycelium deutlich als verschlungene Fäden erkennen lassen, finden sich in den älteren Theilen die Klumpen. Diese Massen entsprechen vollständig den in den Rindenzellen der Orchideenwurzeln gefundenen braunen Klumpen, die ja lange genug ein Streitobjekt älterer und neuerer Forscher gewesen sind, bis sie von WAHRLICH[1]) mit Sicherheit als Pilzknäuel erkannt worden sind. Die braune Farbe der Klumpen scheint durch Umsetzung des in den Pilzhyphen vorhandenen Oeles hervorgerufen zu werden, wenigstens darf man dieses wohl annehmen, wenn man den allmählichen Uebergang des farblosen Myceliums in die braunen Massen in Betracht zieht. Zuerst treten nämlich die Oeltropfen als leuchtende Kügelchen in der auch sonst stark durchscheinenden Masse hervor, dann gehen sie aber mit in eine vollständig homogene duffe Masse über. Für die harzige Natur dieser Körper spricht auch die grosse Widerstandsfähigkeit derselben gegen Einwirkung von Säuren und Alkalien.

Wie bei der Mykorhiza der Orchideen beobachtet man auch hier, dass der Zellkern, der sehr gross ist, neben dem Pilzgewebe in der Zelle existiren kann. Häufig dringen jedoch auch die Pilzfäden in den Zellkern (Fig. 6) hinein, oder sie umschlingen ihn in dichtem Gewirre, so dass er im Innern des Pilzknäuels zu liegen kommt.

Eine schädliche Einwirkung des Wurzelpilzes auf die Pariswurzeln hat sich niemals gezeigt, sondern stets machten die Wurzeln in allen ihren Theilen den Eindruck von durchaus gesunden und in kräftiger Entwickelung befindlichen Organen.

2. Ranunculus acris. Das untersuchte Material ist von verschiedenen Stellen bei Berlin, Stralsund und auf Rügen entnommen.

An einem verkürzten Wurzelstock entspringen in grosser Zahl die Haupt-

1) Beitrag zur Kenntniss der Orchideenwurzelpilze. Botanische Zeitung 1886.

wurzeln (Fig. 9), die bis 30 *cm* lang sind und einen Durchmesser von durchschnittlich 0,8 *mm* besitzen. Nach dem Vegetationspunkte zu verjüngen sich diese Wurzeln nur unbedeutend, so dass in einer Entfernung von ca. 0,5 *mm* von der Spitze die Wurzeln noch über 0,5 *mm* stark sind. Diese Wurzeln sind mehr oder weniger reich verzweigt in dünne Nebenwurzeln, die den anatomischen Verhältnissen der Hauptwurzel entsprechend in vier Längsreihen derselben ansitzen. Diese Nebenwurzeln besitzen durchschnittlich einen Durchmesser von 0,25 *mm* und eine Länge von höchstens 12 *cm* und verzweigen sich nicht selten wieder. Letztere Verzweigungen sind dann nicht wesentlich dünner als die Nebenwurzeln erster Ordnung. Auch die Nebenwurzeln verjüngen sich nicht wesentlich nach dem Vegetationspunkte zu. Es sind also Hauptwurzeln und Nebenwurzeln von Anfang an verschieden und fast in ihrem ganzen Umfange angelegt, und es findet ein nachträgliches Dickenwachsthum nur in sehr beschränktem Masse statt.

Sowohl Hauptwurzeln als auch Nebenwurzeln sind mit kräftig entwickelter Wurzelhaube versehen, auch findet man Wurzelhaare bei beiden, bei den starken Wurzeln spärlich, bei den feinen Seitenwurzeln reichlicher.

Der anatomische Bau der Hauptwurzel, wie er auf dem Querschnitt zu erkennen ist, ist folgender.

Der centrale Strang wird gebildet von einem tetrarchischen Holzkörper, zwischen dessen Strahlen der Siebtheil liegt. Dieser Strang, der ca. $^1/_{10}$ des Gesammtdurchmessers der Wurzel stark ist, wird umschlossen durch das Pericambium und die Endodermis. Die Rinde besteht aus dem Rindenparenchym, der subepidermalen Schicht und der Epidermis. Das Rindenparenchym wird gebildet von ca. zehn Schichten runder, auf dem Querschnitt isodiametrischer Zellen. Keine dieser Zellreihen fällt auf durch die Grösse ihrer Zellen. Das Rindenparenchym ist meist vollgepfropft mit Stärke. Die subepidermale Schicht besteht aus Zellen, die auf dem Querschnitt radial gestreckt sechseckig und palisadenähnlich fest aneinanderliegend erscheinen. Die Zellen der Epidermis sind auf dem Querschnitt isodiametrisch und ihre äusseren Membranen sind stark verdickt.

Der anatomische Bau der Nebenwurzeln weicht von dem der Hauptwurzeln darin ab, dass statt des tetrarchen Xylems nur zwei Gefässgruppen vorhanden sind, die in einem Bündel von Phloëm einander gegenüberliegen. Die Rinde wird von drei oder vier Zellschichten gebildet, die Zellen der der Endodermis anliegenden Schicht sind besonders gross. Die Zellen der subepidermalen Schicht erscheinen auf dem Querschnitt isodiametrisch fünf- bis sechseckig. Die äusseren Membranen der Epidermiszellen sind auch hier stark verdickt.

Unter Anwendung von Chlorzinkjod, Jod-Schwefelsäure, Schwefelsäure und Chromsäure wurde die chemische Beschaffenheit der Zellmembranen, sowohl bei den Hauptwurzeln, als auch bei den Nebenwurzeln studirt. Es ergaben hierbei die Zellwände der Endodermis, der subepidermalen Schicht und der Epidermis, sowie die der Wurzelhaare die Reaktionen von cuticularisirter Membran, die Gefässe die von Holzstoff und die übrigen Wände die von Cellulose [1]).

1) Es mag bei dieser Gelegenheit darauf hingewiesen werden, dass die Membranen der Wurzelhaare meistens nicht, wie allgemein angenommen wird, und wie auch FRANK-SCHWARZ in seiner in den Untersuchungen aus dem Botanischen Institut zu Tübingen I, 2. Heft, 1883 veröffentlichten Monographie über Wurzelhaare angiebt, aus Cellulose bestehen, sondern dass

Während die dicken Hauptwurzeln niemals Verpilzung zeigen, sind die feinen Seitenwurzeln meistens in endotrophische Mykorhizen übergegangen. Auch hier findet die Durchwucherung des Rindenparenchims mit Pilzgewebe ihren Anfang durch Infektion von aussen. Es dringen die Pilze intercellular durch die Epidermis und die subepidermale Schicht hinein in den Wurzelkörper, um sich durch die Intercellularräume oder die kleinen Rindenzellen hindurchzuarbeiten zu den grossen Zellen der Schicht, welche die Endodermis einschliesst. In diesen Zellen befinden sich die Hauptmassen der Pilze, durch welche die Zellräume ganz oder zum Theil angefüllt werden (Fig. 10). Bei schwächerer Vergrösserung sieht man nur Massen von unbestimmter Form und erst bei stärkerer Vergrösserung erkennt man mehr oder weniger deutlich ein Gewirr von Pilzfäden.

Die Pilzfäden sind im Innern der Wurzeln immer mit zarter, farbloser Membran umkleidet, der Durchmesser der Fäden beträgt höchstens 4 μ Blasige Erweiterungen der Pilzschläuche sieht man auch hier häufiger.

Wie sowohl auf Längsschnitten als auch auf Querschnitten zu erkennen ist, stehen die Pilzmassen der einzelnen Zellen in Verbindung miteinander und auch mit der Umgebung der Wurzeln.

Es ist also die Epidermis in den feinen Nebenwurzeln mit einem Mantel von Pilzgewebe umgeben und dieser Mantel reicht immer bis nahe an die Wurzelspitze.

Die Verpilzung der feinen Wurzeln ist eine sehr regelmässige, nur sehr selten sind pilzfreie Nebenwurzeln zu finden. Diese gleichen dann aber stets den verpilzten vollständig, so dass sich daraus ergiebt, dass die Pilze nicht etwa eine schädliche Einwirkung auf den Wurzelkörper ausgeübt haben.

Wie bei Ranunculus acris sind die Mykorhizen auch bei den anderen Ranunculusarten wie R. lingula, R. repens, R. Sardous und auch bei Caltha palustris ausgebildet. Stets erwiesen sich die dicken Hauptwurzeln frei von Pilzgewebe, während die feinen Nebenwurzeln, die doch als nahrungaufnehmende Organe anzusehen sind, in ihren weiten Rindenzellen reichliche Verpilzung zeigten. Für die Auffassung der dünnen Nebenwurzeln als diejenigen Wurzeltheile, die die Nährstoffe aus dem Boden hauptsächlich aufzunehmen haben, spricht nicht nur ihre grosse Feinheit, sondern auch die Art der Anordnung, welche sich besonders gut an den Exemplaren hat studiren lassen, welche mir von Caltha palustris zur Untersuchung vorgelegen haben. Wie bei Ranunculus acris bilden auch hier die dicken Hauptwurzeln ein dichtes Büschel, und während die inneren Wurzeln dieses Büschels gar keine oder nur sehr wenige dünne Nebenwurzeln tragen, sind die äusseren Wurzeln reich mit häufig wieder

---

sie, ebenso wie auch die Membranen der Epidermiszellen, bei der grössten Zahl der von mir untersuchten Wurzeln die Reaktionen von cuticularisirter Membran gaben. Verhältnissmässig selten habe ich bei den Wurzelhaaren aus Cellulose bestehende Membranen gefunden, die dann nach aussen mit einer zarten Cuticula umzogen waren. Meistens geben die Membranen der Epidermiszellen bis zum Vegetationspunkte hin und die der Wurzelhaare von deren jüngsten Anfängen an Cuticulareaktion. Weitere Untersuchungen über die chemische Beschaffenheit der Membranen der Wurzelhaare, sowie eine Vergleichung der Fälle, in denen dieselben aus Cellulose bestehen, mit denen, in welchem sie cuticularisirt sind, behalte ich mir vor. An dieser Stelle will ich nur darauf hinweisen, dass Wechselbeziehungen zwischen gewöhnlichen Wurzeln und Mykorhizen und dem chemischen Verhalten der Membranen der Wurzelhaare und der Epidermiszellen nicht vorliegen.

verzweigten feinen Nebenwurzeln besetzt. Hierdurch wird der Eindruck hervorgerufen, als sollte gerade durch die feinen Nebenwurzeln der umgebende Boden möglichst ausgenützt werden, und würden aus Zweckmässigkeitsrücksichten die feinen Nebenwurzeln nur da in grösserer Menge angelegt, wo sie am besten ihre Aufgabe, grossmöglichste Ausnützung des Bodens zum Besten der Pflanze erfüllen können.

3. Holcus lanatus. Das untersuchte Material entstammt einer sandigen Trift bei Gross-Lichterfelde und einem Walde bei Tegel.

An dem kriechenden ca. 1 *mm* starken Wurzelstocke sitzen die bis 25 *cm* langen Hauptwurzeln, die meistens 0,2—0,35 *mm* stark sind und sich nach dem Vegetationspunkte zu allmählich verjüngen, so dass die jüngsten Partieen nur noch ca. 0,04 *mm* stark sind. An diesen Hauptwurzeln sitzen in grosser Zahl die Nebenwurzeln von meistens geringerer Länge (bis 5 *cm*), die an der Ansatzstelle bis 0,25 *mm* stark sind und sich nach dem Vegetationspunkte zu bis auf 0,03 *mm* verjüngen. Die Nebenwurzeln selbst sind häufig wieder verzweigt. Die Art der Verzweigung ist aus Fig. 11 zu ersehen, in der die Spitze einer Hauptwurzel sammt ihren Verästelungen bei mässiger Vergrösserung wiedergegeben ist.

Haupt- und Nebenwurzeln besitzen denselben anatomischen Bau. In den jüngsten Theilen besteht das centrale Bündel aus wenigen Gefässen und dem Siebtheil. Dasselbe wird eingeschlossen durch das Pericambium und die nach innen stark verdickte Endodermis. Die Rinde besteht aus drei Zellschichten, eine eigentliche Rindenschicht, die subepidermale Schicht und die Epidermis, deren äussere Membranen nicht verdickt sind, und deren Zellen häufig zu Wurzelhaaren ausgewachsen sind. Diesen anatomischen Bau zeigen die jüngsten Theile der Wurzel, bis zu einem Durchmesser von ca. 0,18 *mm*, indem die einzelnen Schichten dem Gesammtdurchmesser entsprechende Dimensionen besitzen. So messen z. B. bei einer 0,09 *mm* starken Stelle einer Wurzel, die im Querschnitt in Fig. 12 dargestellt ist, das centrale Bündel incl. Endodermis 0,02 *mm* und die Rindenzellen ebensoviel. An stärkeren Wurzelstellen sind mehr Gewebeelemente, sowohl ausserhalb, als auch innerhalb der Endodermis, so dass bei einem Durchmesser von 0,2 *mm* bereits 4 Reihen, bei einem Durchmesser von 0,32 *mm* 6 Reihen und bei einem Durchmesser von 0,35 *mm* 7 Reihen von Zellen ausserhalb der Endodermis vorhanden sind. Die Gewebeelemente des centralen Stranges sind stets proportional an Zahl und Grösse dem Durchmesser der Wurzeln. Die älteren Theile derselben bestehen fast ausschliesslich aus dem centralen Strang, es sind die Rindenzellschichten mehr oder weniger abgestossen, so dass die Endodermis schliesslich nur noch umgeben ist von wenigen Schichten verkorkten Rindengewebes.

Für die verschiedene Zahl der Gewebeelemente in den einzelnen Wurzeltheilen sind nur zwei Erklärungen möglich, entweder ist ursprünglich ein stärkerer Vegetationspunkt vorhanden gewesen, der bei weiterem Wachsthum allmählich abnimmt, so dass an den jüngeren Theilen der Wurzeln weniger Elemente vorhanden sind, oder es findet auch bei den Wurzeln von Holcus und ebenso bei den anderen von mir untersuchten Gramineen thatsächlich ein sekundäres Dickenwachsthum statt.

Die jüngeren Theile dieser Wurzeln zeigen stets die Eigenschaften der endotrophischen Mykorhiza, die weiten Zellen der eigentlichen Rindenschicht sind mit Pilzgewebe angefüllt, welches mit der Umgebung der Wurzel durch

Pilzschläuche reichlich in Verbindung steht Nicht selten sieht man auch in den Zellen der subepidermalen Schicht Pilzschläuche und wohl gar Pilzmassen, doch beschränkt sich die Hauptausdehnung des Pilzmyceliums im Innern des Wurzelkörpers auf die Rindenschicht. Dasselbe bildet auch hier einen dichten ununterbrochenen Mantel um die Endodermis, der fast bis an die Wurzelspitze reicht. Das Pilzgewebe sieht in diesen Wurzeln ebenso aus, wie es ausführlich bereits bei Paris quadrifolia und Ranunculus acris geschildert worden ist. Die Stärke der einzelnen Fäden beträgt im Durchschnitt 4 *μ*. Man sieht die Wurzeln auch äusserlich von einem Gewirr von Pilzfäden leicht umschlungen, die meistens, wie die Hyphen im Innern, farblos, nicht selten jedoch auch mehr oder weniger braun gefärbt sind. Verwachsen sind jedoch diese Pilzfäden nicht mit der Epidermis der Wurzeln, wie es bei den ektotrophischen Mykorhizen der Fall ist, dagegen lässt sich häufig eine Verbindung zwischen diesen Pilzfäden und dem Mycelium im Innern der Wurzeln beobachten. An den dickeren Theilen der Wurzeln findet man die Pilzmassen nur in den äusseren Zellschichten der Rinde, er beschränkt sein Wachsthum immer auf die Zellreihen, die unter der subepidermalen Schicht liegen, und man kann in dieser Zellreihe die Pilzmassen beobachten, bis dieselbe abgestossen wird.

Wie bei Holcus lanatus sind die Mykorhizen auch bei den übrigen Gramineen, z. B. Festuca ovina gefunden worden.

4. *Leontodon auctumnalis.* Es sind untersucht worden Wurzeln von Pflanzen, die auf einer sandigen Trift bei Gross-Lichterfelde und in der Nähe des Strandes bei Stralsund gefunden worden sind.

Der Wurzelstock ist verkürzt, an ihm sitzen in dichtem Büschel eine grosse Zahl von Wurzeln, die 0,4 bis 2 *mm* stark und bis 25 *cm* lang sind und sich nach dem Vegetationspunkte zu allmählich verjüngen, so dass ihr Durchmesser schliesslich nur noch 0,1 *mm* beträgt. Diese Wurzeln sind mehr oder weniger reich verzweigt in Nebenwurzeln, die an den Ansatzstellen fast ebenso stark sind als die Hauptwurzeln an diesen Stellen, und die sich wie die Hauptwurzeln nach dem Vegetationspunkte zu verjüngen. Fig. 13 zeigt das Ende einer Leontodonwurzel mit ihren Verästelungen bei mässiger Vergrösserung.

Haupt- und Nebenwurzeln haben denselben anatomischen Bau, der bis zu einer Stärke der Wurzelstellen von ca. 0,15 *mm* folgender ist. Der centrale Strang wird von wenigen Gefässen und Siebtheilen gebildet und eingeschlossen durch das Pericambium und die Endodermis. Die Rinde wird nur von drei Schichten gebildet, der eigentlichen Rindenschicht, bestehend aus weitlumigen Zellen, der subepidermalen Schicht, deren Zellen auf dem Querschnitt sechseckig und geschlossen aneinanderliegend erscheinen, und der Epidermis, deren Zellen häufig zu Wurzelhaaren ausgewachsen sind. Wenn die Wurzeln einen Durchmesser von ungefähr 0,15 *mm* erreicht haben, geht das weitere Dickenwachsthum durch Bildung von neuen Zellreihen vor sich. Das centrale Bündel nimmt an Umfang zu, und ausserhalb der Endodermis werden neue Schichten von Rindenzellen gebildet, so dass beispielsweise bei einem Durchmesser von 0,22 *mm* vier und bei einem Durchmesser von 0,5 *mm* zwölf Rindenschichten vorhanden sind. Bei weiterem Dickenwachsthum nimmt der centrale Strang sehr an Umfang zu und die Zellschichten der Rinde werden von aussen anfangend allmählich abgestossen, so dass bei einem Gesammtdurchmesser von

0,7 *mm* der centrale Strang 0,55 *mm* stark und die Rinde auf vier Zellreihen reduzirt ist.

Die feinen Theile der Wurzeln zeigen nun durchweg die Eigenschaften von endotrophischen Mykorhizen.

Man sieht in ihren feinen Theilen die Zellen der Rindenschicht dicht angefüllt mit Pilzparenchym von glasiger homogener Beschaffenheit. Die Pilzmassen in den einzelnen Zellen sind, sowohl unter sich, als auch mit der Umgebung der Wurzeln reichlich in Verbindung. Beim Dickenwachsthum der Wurzel dringen die Pilze zunächst in die an der Endodermis neu entstandenen Zellschichten hinein und füllen auch diese vollständig mit ihrem Mycelium an. Jedoch werden so höchstens zwei bis drei der neu entstandenen Rindenzellschichten mit Pilzgewebe gefüllt; bei stärkerem Dickenwachsthum dringen die Pilze nicht weiter in die neuen Zellschichten hinein. Das Pilzgewebe, welches zuerst die Zellen mehr oder weniger ganz ausfüllte, schrumpft dann zusammen und verändert seine Konsistenz, indem die anfangs glasige und stark durchscheinende Masse in eine vollständig duffe übergeht, und bleibt dann in Gestalt von Klumpen von mannigfacher, meistens blumenkohlartiger Form in den Zellen zurück. Die anfangs stets zu beobachtende Verbindung der Pilzmassen in den einzelnen Zellen mit einander ist dann häufig auch nicht mehr aufzufinden. Es ist das Mycelium, welches sich bei den feinen Theilen der Wurzeln in kräftiger Lebensthätigkeit befindet, beim Dickenwachsthum der Wurzeln allmählich in den Zustand eines ruhenden oder todten Gewebes übergegangen. Die Pilzklumpen kann man in den betreffenden Rindenzellschichten beobachten, bis letztere beim weiteren Dickenwachsthum der Wurzeln abgestossen werden.

So wie hier beschrieben sind die Mykorhizen in den meisten von mir gefundenen Fällen beschaffen, z. B. bei den übrigen Kompositen, den Umbelliferen, den Rosaceen, den Gentianeen u. s. w.

Die Wurzeln aller dieser Pflanzen haben das gemeinschaftlich, dass sie in ihren jungen Theilen die Eigenschaften der endotrophischen Mykorhizen besitzen, diese Mykorhizen können dann aber wieder durch Dickenwachsthum des Wurzelkörpers in gewöhnliche Tragwurzeln von mannigfacher Form übergehen. Natürlich können sich aus räumlichen Gründen nicht alle Mykorhizen zu dicken Wurzeln entwickeln, sondern, wie man sich schon leicht durch Betrachtung z. B. einer Umbelliferenwurzel überzeugen kann, sind nur wenige Saugwurzeln zu dicken Organen ausgewachsen, die meisten sitzen als feine Wurzelfasern an diesen dickeren Wurzeln, die als ihre Träger fungiren.

III. Vergleichung der neu gefundenen Mykorhizen mit den bereits bekannten.

Nachdem so die neugefundenen Mykorhizen an verschiedenen Beispielen beschrieben sind, will ich die gemeinschaftlichen Eigenschaften dieser Formen zusammenfassen und dieselben mit denen der bisher bekannten Pilzwurzeln vergleichen.

Bei Paris, deren ziemlich dicke Wurzeln nicht weiter verzweigt sind, hat sich das Pilzmycelium natürlich in diesen dicken Wurzeln eingenistet. Bei den

Ranunculaceen, bei denen zwei ganz verschieden angelegte Wurzelarten, relativ dicke Tragwurzeln und sehr feine Saugwurzeln vorhanden sind, findet man stets nur die Saugwurzeln verpilzt. Bei den Pflanzen, bei denen aus den Saugwurzeln oder wenigstens aus einem Theile derselben dickere Wurzeln entstehen können, z. B. bei den Compositen, Umbelliferen u. s. w., finden wir stets nur die ganz feinen Organe mit den Eigenschaften der Mykorhizen behaftet. Wenn diese Organe sich weiter entwickeln, verlieren sie ihren Charakter als Mykorhizen dadurch, dass das Pilzgewebe in einen ruhenden oder todten Zustand übergeht und schliesslich abgestossen wird.

Es sind also stets nur die nahrungaufnehmenden Wurzeltheile, diese aber in grösster Regelmässigkeit durch Symbiose mit dem Wurzelpilz in Mykorhizen umgewandelt.

Aus den Beschreibungen der Mykorhizen geht deutlich hervor, dass das Pilzgewebe im Wurzelkörper so gelagert ist, dass es für die Nahrungsaufnahme die grössten Dienste leisten kann. Sehen wir von Paris ab, so finden wir stets den centralen Strang, also das Organ der Pflanze, durch welches die durch die Wurzeln aufgenommene Nahrung in den Pflanzenkörper geleitet wird, in den feinen Wurzeln mit einem dichten Mantel von Pilzgewebe umschlossen. Die Pilzmassen füllen in grösster Regelmässigkeit die Zellen der Schicht aus, welche die Endodermis umgiebt, und da diese Pilzmassen in den einzelnen Zellen durch zahlreiche durch die Zellwände gehende Pilzschläuche mit einander verbunden sind, ist die Pilzhülle anzusehen als ein den centralen Strang eng umschliessender einheitlicher Körper, der fast bis zum Vegetationspunkte reicht. Nur dieser und das Folgemeristem sind frei von diesem Pilzmantel. Da die Nahrung aus dem Boden nur durch die feinen Wurzeltheile aufgenommen werden kann, muss dieselbe stets, selbst wenn sie durch die meistens vorhandenen Wurzelhaare aufgenommen wird, doch den Pilzmantel passiren, weil kein anderer Weg frei bleibt, als der durch das Pilzmycelium, denn sicher kann die Nahrung nicht aufgenommen werden durch die allein pilzfreie im Wachsthum befindliche Wurzelspitze, noch durch die älteren mit Korkschichten umkleideten Wurzeltheile, in denen sich kein Pilzgewebe mehr befindet. Wie etwa bei der Nahrungsaufnahme der Pilz betheiligt sein könnte, will ich nicht weiter erörtern. Es liegt nahe anzunehmen, dass die Pilzfäden Nährstoffe assimiliren können, welche aufzunehmen, die Wurzelzellen allein untauglich sind. Vielleicht ist auch der direkte Weg durch das Pilzmycelium, dessen Fäden nur sehr selten durch Querwände getheilt sind, ein bequemerer als der durch die Wurzelhaare und die Rindenzellen, wo so oft Widerstände mittelst der Endosmose zu überwinden sind.

Auch bei Paris, wo doch die pilzführenden Zellen noch durch mehrere Rindenschichten vom centralen Strang getrennt sind, verhält sich die Sache nicht anders. Hier liegt ein ebenfalls geschlossener Pilzmantel unter der subepidermalen Schicht. Auch bei Paris müssen alle durch die Wurzeln aus dem Boden aufzunehmenden Nährstoffe, die durch den centralen Strang dem Wurzelkörper zugeführt werden, durch die pilzführenden Zellen hindurchgeleitet werden. *Es sind also auch bei den neu gefundenen Mykorhizen, wie bei den bisher bekannten, die Pilzmassen so orientirt, dass sie nothwendig die Vermittlung zwischen den aufzunehmenden Stoffen und der Leitungsbahn der Wurzeln übernehmen müssen.*

Ob die Wurzelhaare der Mykorhizen, die wie bei gewöhnlichen Saugwurzeln ausgebildet sind, nur mechanisch zur Befestigung des Pflanzenkörpers

und zur Erleichterung des Eindringens der Wurzeln in den Erdboden dienen, oder ob sie sich mit dem Wurzelpilz in die Aufnahme von Nahrung aus dem Boden theilen, mag dahingestellt bleiben. Wenngleich bei den untersuchten Pflanzen die Wurzelhaare öfter ganz fehlten oder doch nur in geringer Zahl entwickelt waren, so liegt doch keine Wechselbeziehung vor zwischen Vorhandensein und Fehlen von Mykorhizenpilz und der mehr oder minder reichlichen Ausbildung von Wurzelhaaren.

Bezüglich der Einwirkung des Pilzes auf die Wurzeln ist hervorzuheben, dass eine krankhafte Erscheinung oder Störung in der Entwickelung des Wurzelkörpers, durch den Mykorhizenpilz hervorgerufen, von mir niemals beobachtet worden ist. Stets machten die mit dem Mykorhizenpilz behafteten Wurzeln den Eindruck von durchaus gesunden und durch nichts in ihrer normalen Entwickelung gestörten Organen. Es ist ja auffallend, dass die mit den Pilzmassen angefüllten Zellen in der Regel bedeutend grösser sind als die übrigen Rindenzellen. Durch Vergleichen von verpilzten und unverpilzten Wurzeln und durch genaue Messungen nicht nur bei den Wurzeln von Paris allein, sondern auch bei anderen Wurzeln, habe ich aber mit Sicherheit constatiren können, dass die betreffenden Zellen auch schon vor der Verpilzung dieselbe Grösse haben, dass sie also nicht durch die Pilze pathologisch erweitert worden sind, sondern dass die Pilze sich nur der weitlumigen Zellen bemächtigt haben.

Was nun die Beziehungen zwischen Wurzeln und Mykorhizenpilz anbetrifft, so geht schon aus der gesunden Beschaffenheit der Wurzeln und jedem Fehlen von pathologischen Veränderungen an denselben hervor, dass auch in den von mir gefundenen Fällen der Verpilzung der Saugwurzeln ein blosser Parasitismus seitens der Pilze nicht vorliegt. Ausserdem sprechen aber noch verschiedene Gründe dafür, dass die Pilze es nicht allein auf eine Ausbeutung der Pflanze abgesehen haben. Zunächst das Beschränktsein des Pilzes auf die ganz feinen Wurzeln. Käme es dem Pilze nur darauf an, sich möglichst viel Vortheil aus der Pflanze zu verschaffen, so würde ihn sicher nichts abhalten, zum Beispiel auch in die Träger der Saugwurzeln, in die ungefähr 0,8 *mm* starken Hauptwurzeln von Ranunculus acris und der anderen Ranunculusarten, einzudringen, in deren Rindenzellen bei dem untersuchten Material stets in grosser Menge Stärke angehäuft war, das Nahrungsmittel, welches die parasitischen Pilze doch mit Vorliebe den sie ernährenden höher organisirten Pflanzen entziehen. Bei den verpilzten Wurzeln, die in die Dicke wachsen, z. B. bei den Compositen, Umbelliferen u. s. w. wächst der Pilz nur in beschränktem Maasse in die neu entstandenen Rindenzellen hinein, aus denen er sich doch sicher ebenso viel Vortheil verschaffen könnte, als aus den Zellen, die er mit seinem Mycelium anfüllt. Dass der Pilz nicht in die neu entstandenen Rindenzellen hineinwächst, beruht nicht etwa darauf, dass sein Wachsthumvermögen überhaupt aufgehört hat, denn es befindet sich der Pilz in einem fortwährenden Wachsthum nach der Wurzelspitze zu, welches immer gleichmässig mit dem Wachsen des Wurzelkörpers vor sich geht, so dass der Pilzmantel, der den centralen Strang umschliesst, dem Vegetationspunkte stets gleich nahe ist. Aus diesem langsamen und begrenzten Wachsthum des Pilzes im Wurzelkörper geht doch auch mit Sicherheit hervor, dass er nicht parasitischer Natur ist. Am meisten spricht aber die grosse und regelmässige Verbreitung des Mykorhizenpilzes gegen die Annahme eines Parasitismus. Wenn auch benachbarte Pflanzen

oder vielleicht auch Pflanzen derselben Gegend in ihren Wurzeln mit einem parasitischen Pilz behaftet sein können, so kann sich derselbe doch unmöglich mit einer so grossen Regelmässigkeit verbreiten auf in räumlich so getrennten Gegenden gesammelte Pflanzen, wie ich sie zu meinen Untersuchungen verwendet habe. Ich habe aber, wie aus der unten folgenden Uebersicht über die von mir untersuchten Pflanzen zu ersehen ist, Wurzeln einiger Pflanzen nicht nur von verschieden beschaffenen, sondern auch weit von einander entfernten Standorten zur Untersuchung genommen, und stets, wenn die Pflanzen ihrem natürlichen Standorte entnommen waren, die Verpilzung in grosser Regelmässigkeit und stets gleicher Beschaffenheit gefunden.

Wäre der Pilz nur ein Parasit in den Pflanzenwurzeln und die betreffenden Pflanzen unter natürlichen Verhältnissen nicht an das Vorhandensein des Wurzelpilzes gebunden, so würde dieser wohl bisweilen gefehlt haben.

HARTIG und GROSGLICK (Botanisches Centralblatt 1886, Nr. 11) führen als Begründung für ihre Annahme eines parasitären Charakters des Wurzelpilzes die geringe Lebensdauer der Mykorhizen an. Diese Ansicht hat FRANK allerdings schon durch seine Beobachtungen widerlegt, die ihm ergeben haben, dass die Mykorhizen keine geringere Lebensdauer haben, als gewöhnliche Saugwurzeln. Das Unzutreffende der Annahmen HARTIG's und GROSGLICK's wird aber auch deutlich bewiesen durch das Verhalten der Mykorhizen bei den Compositen, Umbelliferen, Rosaceen, Campanulaceen etc. etc. Hier kann man, wie bei der Beschreibung der Mykorhizen von Leontodon auctumnalis ausführlich geschildert ist, beobachten, dass aus den verpilzten Saugwurzeln Tragwurzeln von mannigfacher Stärke und Form entstehen können. Es wirkt also der Wurzelpilz in keiner Weise störend oder hemmend auf die weitere normale Entwickelung des Wurzelkörpers ein. Die verpilzte Wurzel kann wie jede andere unverpilzte in die Dicke wachsen und auch selbst wieder Nebenwurzeln bilden. Natürlich können sich aus räumlichen Rücksichten nicht alle feinen Wurzeln zu stärkeren Organen entwickeln und sich wieder verzweigen, jedoch kommt es dabei nicht in Betracht, ob die Wurzeln verpilzt oder unverpilzt sind. *Es besitzen also die Mykorhizen nicht nur gleiche Lebensdauer, wie die gewöhnlichen unverpilzten Saugwurzeln, sondern es ist auch kein Unterschied zwischen ihnen vorhanden in der weiteren Entwickelung und dem Aufbau des Wurzelkörpers.*

Nachdem durch die letzten Ausführungen festgestellt ist, dass auch bei den neu gefundenen Mykorhizen der Pilz nicht als Parasit in den Wurzeln lebt, genügt es, an dieser Stelle mit wenigen Worten darauf hinzuweisen, wie sehr man berechtigt ist, anzunehmen, dass die Pflanzen von dem Wurzelpilz einen grossen Nutzen haben. Schon die Orientirung des Wurzelpilzes in den Wurzeln zeigt, wie bei der Beschreibung derselben hervorgehoben ist, dass der Mykorhizenpilz bei der Uebertragung der Nahrung aus dem Boden in die Pflanze die grösste Rolle spielen muss. Wie gross die Einwirkung des Wurzelpilzes bei der Ernährung von Pflanzen ist, hat man für die ektotrophische Mykorhizen durch Kulturversuche experimentell festgestellt. Obgleich die anatomische Beschaffenheit der ektotrophischen Mykorhizen eine ganz andere ist als die der endotrophischen, so sind beide in ihrer physiologischen Bedeutung sicher einander gleich zu stellen, denn bei beiden ist das Pilzmycelium so orientirt, dass durch dasselbe nothwendig die Nahrungsaufnahme vor sich gehen muss. Deshalb ist

man wohl berechtigt, das, was für die ektotrophischen Mykorhizen bewiesen ist, auch für die endotrophischen Mykorhizen als wahrscheinlich anzunehmen.

Da alle von mir mit Mykorhizen versehen gefundene Pflanzen auf einem Boden gestanden haben, der wenigstens etwas humöse Bestandtheile enthält und ein Parasitismus seitens des Pilzes aus den angeführten Gründen nicht denkbar ist, so wird man wohl auch in den neuen Fällen den Wurzelpilz für einen saprophyten erklären dürfen, der seine Lebensbedingungen nicht in den lebenden Wurzeln, sondern in den abgestorbenen und verwesenden Pflanzenresten, dem Humus, findet.

Dass aber auch nicht nur ein Ausnützen des Pilzes durch die Pflanze vorliegt, sondern dass Pilz und Wurzel sich in wirklicher Symbiose mit einander befinden, sieht man aus folgenden Erscheinungen. Der Pilz bewirkt selbstständig die Bildung von Mykorhizen und richtet sein Leben ganz den Funktionen entsprechend ein, die er als Mykorhizenpilz zu vollführen hat. Sehr ausgeprägt sieht man letzteres bei denjenigen Mykorhizen, aus denen durch Dickenwachsthum wieder gewöhnliche Tragwurzeln entstehen können.

Während in den feinen nahrungaufnehmenden Theilen das Pilzmycelium in geschlossenem Mantel die Endodermis umgiebt, geht es, wenn die Wurzeln in die Dicke wachsen und sich dabei neue Rindenzellen bilden, gar nicht mehr, oder doch nur in sehr beschränktem Masse in diese hinein, und die Pilzmassen, die zuerst die betreffenden Zellen ganz ausfüllten, schrumpfen zusammen und bleiben als Klumpen von meist blumenkohlartiger Form in den Zellen zurück und werden mit diesen bei weiterem Dickenwachsthum abgestossen.

Hieraus sieht man doch auf das Deutlichste, wie genau der Pilz sich der Entwickelung der Wurzel anpasst. Sobald er nicht mehr seine Funktionen als Mykorhizenpilz erfüllen kann, wird seine Beschaffenheit verändert, es geht das lebende Pilzgewebe in ein ruhendes oder todtes über. Dagegen wächst der Pilz fortwährend nach dem Vegetationspunkte zu, um immer als ernährendes oder die Ernährung vermittelndes Organ in Thätigkeit bleiben zu können. *Wie bei den früher bekannten Fällen von Wurzelverpilzung befindet sich auch in den von mir gefundenen der saprophyte Wurzelpilz in einem mutualistischen Verhältnisse zu der Pflanzenwurzel, mit welcher er ein einheitliches Organ, die Mykorhiza bildet. Diese Mykorhizen vermitteln anscheinend auch in den neu gefundenen Fällen die direkte Ernährung der Pflanzen aus dem Humus.*

Ueber die systematische Stellung des Wurzelpilzes haben auch meine Beobachtungen irgend welche Anhaltspunkte nicht ergeben.

Fruktifikationsorgane haben sich niemals gefunden, und aus der morphologischen Beschaffenheit des Mycels irgend welche Schlüsse ziehen zu können, ist nicht möglich, da die Formen der Hyphen sogar in benachbarten Zellen ganz verschieden sind. Auch die Stärke der Pilzfäden variirt sehr, es finden sich mitunter in ein und derselben Zelle Fäden von ganz verschiedenem Durchmesser.

Kulturversuche mit Mykorhizenpilzen hat bisher nur WAHRLICH gemacht (Beitrag zur Kenntniss der Orchideenwurzelpilze, Botanische Zeitung 1886). Derselbe will aus dem Wurzelpilz von Vanda-Arten Perithecien erhalten haben, die der Gattung Nectria angehören.

Auch ich habe Kulturversuche mit einem Mykorhyzenpilze vorgenommen und zwar mit dem in den Pariswurzeln vorkommenden. Ich brachte verpilzte Stellen dieser Wurzeln in hängende Tropfen von sterilisirtem Apfel- und

Pflaumendecocten und überliess dieselben in einer feuchten Kammer bei einer Temperatur von ca. 20° ihrer weiteren Entwickelung. Bei den regelmässig vorgenommenen Beobachtungen dieser Schnitte fand ich in den ersten zwei bis drei Tagen überhaupt keine Veränderung, dann begann in einigen Präparaten ein Wachsen von Pilzfäden, genau so, wie WAHRLICH es in seiner Arbeit beschrieben. Ich konnte jedoch konstatiren, dass diese schnell wachsenden Pilzfäden in keinerlei Zusammmenhang mit dem in den Wurzeln befindlichen Mykorhizenpilz standen. Natürlich liegt es mir vollständig fern, durch diese Mittheilung das Resultat von WAHRLICH's Arbeit irgendwie in Frage stellen zu wollen, zumal ich die weitere Entwickelung der von mir beobachteten schnell wachsenden Pilze nicht verfolgt habe, nachdem ich konstatirt, dass sie zum Mykorhizenpilze in keiner Beziehung stehen. Ein Wachsen des Mykorhizenpilzes in den angegebenen Nährflüssigkeiten habe ich nicht beobachten können. Es müssen also zur Festsetzung der systematischen Stellung des Wurzelpilzes noch weitere Kulturversuche gemacht werden.

Auf die Frage, ob die Mykorhizen der verschiedenen Pflanzen sämmtlich von ein und demselben Pilz gebildet werden, werde ich erst im letzten Theile meiner Arbeit eingehen.

IV. Verbreitung der neuen Mykorhizen nach Pflanzenfamilien.

Nachdem im Vorhergehenden die Art und das Wesen der Symbiose zwischen Wurzeln und Wurzelpilz beschrieben worden, will ich auf die nunmehr konstatirte Verbreitung der Mykorhizen eingehen.

Es sind von den von mir untersuchten Pflanzen folgende unter Angabe der Standorte aufgezählte mit Mykorhizen versehen:

Leguminosae: Lotus corniculatus L. Sandiger Boden bei Halensee bei Berlin.
Trifolium repens L. Sandiger Boden bei Halensee. Wegerand bei Tegel bei Berlin.
Trifolium pratense L. Wiese bei Tegel die von Zeit zu Zeit gedüngt wird, ohne umgepflügt zu werden. Melilotus vulgaris W. Sandiger Boden bei Halensee.

Rosaceae. Fragaria vesca L. Feuchter Waldboden bei Negast in Pommern und trockener Waldboden bei Jagdschloss Grunewald.
Potentilla Tormentilla Schreck. Sandige Trift bei Gross-Lichterfelde.
Comarum palustre L. Wiesen bei Jagdschloss Grunewald und bei Putbus auf Rügen.
Rubus Idaeus L. Wald bei Negast.
Geum rivale L. Wiese bei Pastitz auf Rügen.
Geum rivali-urbanum G. Meyer. Schattiges Gebüsch an der Vogelwiese bei Stralsund.

Oenothereae: Epilobium parviflorum Retz. Sumpfige Stelle im Pastitzer Gehölz auf Rügen.
Epilobium lanceolatum Leb. Grabenrand bei Tegel.

Lythraceae: Lythrum Salicaria L. Ufer am Tegeler See.

Saxifrageae: Parnassia palustris L. Torfwiese bei Negast.

Umbelliferae: Hydrocotyle vulgaris L. Torfwiese bei Negast.
Sanicula europaea L. Schattiges Gebüsch bei Putbus.
Daucus Carota L. Sandige Trift bei Gross-Lichterfelde und Grabenrand bei Stralsund.
Chaerophyllum temulum L. Grabenrand bei Tegel und Gebüsch bei Stralsund.
Pimpinella magna L. Trockener Wald bei Halensee.
Pastinaca sativa. L. Grabenrand bei Stralsund.

Geraniaceae: Geranium Robertianum L. Wald bei Negast.

Oxalidaceae: Oxalis acetosella L. Wald bei Negast.

Hypericaceae: Hypericum perforatum L. Rasenfläche im Gehölz bei Putbus und sandige Trift bei Gross-Lichterfelde.

Violaceae: Viola palustris L. Moorwiese im Grunewald.

Ranunculaceae: Myosurus minimus L. Humusreicher Acker bei Putbus.
Ranunculus acris L. Wiese bei Jagdschloss Grunewald, Acker bei Tegel, Rasenfläche im Park von Pankow, Gebüsch an der Vogelwiese und an anderen Stellen bei Stralsund.
Ranunculus bulbosus L. Rasenfläche im Parke von Pankow bei Berlin.
Ranunculus repens L. Gehölz bei Pankow.
Ranunculus sardous Crtz. Lehmacker bei Pankow.
Ranunculus lingua L. Torfmoor bei Putbus.
Caltha palustris L. Wiese am Teltower See.

Primulaceae: Lysimachia nemorum L. Pastitzer Gehölz.
Primula elatior Jacq. Pastitzer Gehölz.

Borragineae: Echium vulgare L. Sandiger Boden bei Halensee.
Myosotis palustris Rth. Moorwiesen bei Jagdschloss Grunewald und bei Negast.

Solanaceae: Solanum nigrum L. Humusreiche Stelle im Walde bei Jagdschloss Grunewald.

Scrophulariaceae: Veronica Chamaedris L. Wald bei Halensee.
Linaria vulgaris Mill. Wald bei Halensee.

Labiatae: Mentha aquatica L. Sandiges Ufer am Borgwallsee bei Stralsund.
Mentha arvensis L. Grabenrand bei Tegel und im Negaster Gehölz.
Lycopus europaeus L. Aufgeschütteter Boden im Park bei Tegel.
Thymus Serpyllum L. Sandboden bei Gross-Lichterfelde und trockener Wald bei Halensee.
Stachys silvatica L. Trockener Wald bei Putbus.
Scutellaria galericulata L. Grabenrand in einem Gehölz bei Putbus.
Prunella vulgaris L. Wiese am Borgwallsee.
Ajuga genevensis L. Wald bei Tegel.

Plantagineae: Plantago lanceolata L. Sandiger Boden bei Halensee, sandige Trift bei Gross-Lichterfelde und Wegerand bei Stralsund.

Campanulaceae: Jasione montana L. Sandhügel bei Halensee.
Phyteuma spicatum L. Humusreicher Wald bei Göhren auf Rügen.
Campanula rotundifolia L. Wald bei Halensee.

Rubiinae: Galium verum L. Sandhügel bei Halensee.

Compositae: Helichrysum arenarium L. Sandfläche bei Halensee und bei Gross-Lichterfelde.

Bellis perennis L. Wild wachsende Exemplare von einem Rasen bei Stralsund und kultivirte weiss- und rothblühende Exemplare aus Stralsunder Gärten.

Erigeron Canadensis L. Schutthaufen bei Gross-Lichterfelde.

Achillea millefolium L. Sandiger Acker bei Putbus und Sandfläche bei Gross-Lichterfelde.

Anthemis arvensis L. Sandhügel bei Halensee.

Cichorium Intybus L. Wildwachsendes blühendes Exemplar am Grabenrande bei Stralsund und kultivirte ein- und zweijährige Exemplare von Eldena bei Greifswald.

Leontodon hispidus L. Sandiger Boden bei Gross-Lichterfelde.

Leontodon auctumnalis L. Rasen bei Tegel, sandige Trift bei Gross-Lichterfelde.

Taraxacum officinale Moench. Gehölz bei Negast und sandige Trift bei Pankow.

Matricaria Chamomilla L. Trockener Acker bei Putbus auf Rügen.

Lampsana communis L. Wald bei Tegel.

Dipsaceae: Knautia arvensis L. Sandboden bei Putbus.

Valerianaceae: Valeriana officinalis L. Moorwiese am Borgwallsee bei Stralsund.

Euphorbiaceae: Euphorbia Cyparissias L, Rasenplatz bei Tegel.

Asparageae: Asparagus officinalis L. Wildwachsend in einem Dorngebüsch am Strande von Goehren. Kultivirte Exemplare aus verschiedenen Gärten bei Stralsund.

Asphodeleae: Anthericum Liliago L. Wald bei Halensee.

Smilaceae: Majanthemum bifolium Schmidt. Humusreiche Stelle in einem Laubwalde bei Putbus.

Paris quadrifolia L. Humusreiche Stellen in Laubwäldern bei Tegel und bei Putbus.

Gramineae: Aira caespitosa L. Wald bei Station Grunewald.

Agrostis canina L. Moorboden bei Hundekehle bei Berlin.

Holcus lanatus L. Wald bei Tegel und sandige Trift bei Gross-Lichterfelde und Ackerrand bei Schöneberg.

Triodia decumbens P. B. Wiese bei Tegel.

Festuca ovina L. Sandfläche bei Halensee und Wegerand bei Tegel.

Frei von Verpilzung haben sich erwiesen die Wurzeln von folgenden Pflanzen:

Crassulaceae: Sedum acre L. Sandboden bei Gross-Lichterfelde.

Leguminosae: Lupinus luteus L. 1. Kultivirt im Garten der Landwirthschaftlichen Hochschule zu Berlin in reinem Sande, dem nur etwas Mergel, nicht aber anderer Dünger zugegeben ist. 2. Kulturpflanze von einem sandigen Acker bei Göhren.

Phaseolus multiflorus Willd. Wasserkulturen.

Phaseolus vulgaris L. Wasserkulturen.

Rosaceae: Fragaria vesca L. In einem Garten bei Stralsund kultivirt.

Umbelliferae: Daucus carota L. Kulturpflanze. 1. einjährige Exemplare aus dem Botanischen Garten in Berlin und 2. zweijährige Exemplare aus einem Garten bei Stralsund.

Petroselinum sativum L. Botanischer Garten in Berlin.

Scleranthaceae: Scleranthus annuus L. Sandboden bei Gross-Lichterfelde.

Oleraceae: Chenopodium album L. Schutthaufen bei Gross-Lichterfelde.

Droseraceae: Drosera longifolia L. Moorwiese bei Halensee.

Drosera rotundifolia L. Moorwiese am Borgwallsee bei Stralsund.

Cruciferae: Erysimum strictum Fl. Aufgeschütteter Boden am Kanal bei Tegel.

Brassica napus L. Sandboden bei Gross-Lichterfelde.

Brassica nigra L. Kulturpflanze aus dem Botanischen Garten in Berlin.

Lepidium sativum L. Kulturpflanze aus dem Botanischen Garten in Berlin.

Capsella bursa pastoris Mnch. Ackerrand bei Schöneberg, Wegerand bei Lichterfelde und Wegerand bei Tegel.

Raphanus Raphanistrum L. Ackerrand bei Tegel.

Papaveraceae: Papaver somniferum L. Kulturpflanzen aus dem Botanischen Garten in Berlin.

Chelidonium majus L. Aufgeschütteter Boden im Tegeler Park.

Ranunculaceae: Nigella sativa L. Kulturpflanze aus dem Botanischen Garten in Berlin.

Ranunculus fluitans Lmck. Graben bei Stralsund.

Gentianeae: Menyanthes trifoliata L. Botanischer Garten in Berlin, Wiese bei Tegel und Moorwiese am Borgwallsee bei Stralsund.

Labiatae: Mentha arvensis L. und Mentha crispa L. Kulturpflanzen aus dem Botanischen Garten in Berlin.

Plantagineae: Plantago lanceolatus L. Kulturpflanzen aus dem Botanischen Garten in Berlin.

Scrophulariaceae: Melampyrum nemorosum L. Wald bei Tegel und bei Halensee.

Pedicularis palustris L. Wiesen bei Tegel und bei Negast.

Compositae: Achillea millefolium L. Kulturpflanzen aus dem Botanischen Garten in Berlin.

Leontodon alpinus Hamp. Kulturpflanzen aus dem Botanischen Garten in Berlin.

Hydrocharitaceae: Elodea canadensis Richard und Michaux. Graben im Grunewald.

Potamiae: Potamogeton natans L. Graben bei Jagdschloss Grunewald.

Irideae: Iris Pseudacorus L. Sumpfige Stelle am Borgwallsee. Torfwiese bei Grunewald und sumpfige Wiese bei Tegel.

Gramineae: Corynephorus canescens P. B. Sandboden bei Gr.-Lichterfelde.

Poa trivialis L. Gartenrand bei Halensee.

Bromus sterilis L. Sandiger Ackerrand bei Halensee.

Avena sativa L. Kulturpflanzen von leichtem Acker bei Tegel

Cypereae: Eriophorum angustifolium Rth. Torfmoor bei Halensee.
Eriophorum latifolium Hoppe. Moorwiese bei Grunewald.

Cariceae: Carex arenaria L. Sandboden bei Halensee.
Carex paludosa Good. Feuchte Wiese bei Tegel.
Carex flava L. Sandiges, häufig überschwemmtes Ufer am Borgwallsee.

V. Beziehungen des Vorhandenseins oder Fehlens der Mykorhizen zu äusseren Verhältnissen.

Nachdem also eine ganze Anzahl von Pflanzen mit und auch ohne Mikorhizen beobachtet sind, würde es wohl interessant sein, die Verhältnisse zu vergleichen, unter denen den Pflanzen die aus dem Boden zu entnehmenden Nährstoffe mit Hülfe des Wurzelpilzes oder auf andere Weise zugeführt werden.

Zunächst wollen wir fragen, ob verwandtschaftliche Verhältnisse bei der Art der Ernährung eine Rolle spielen.

Von den Familien, aus denen ich Pflanzen untersucht habe, konnte ich eine Verpilzung der Wurzeln nicht beobachten bei folgenden: Crassulaceae, Scleranthaceae, Oleraceae, Droseraceae, Cruciferae. Papaveraceae, Gentianeae, Scrophulariaceae Unterabtheilung Rhinantaceae, Hydrocharitaceae, Potamiae, Irideae, Cypereae, Cariceae.

Davon kommen natürlich für die Vergleichung der verwandtschaftlichen Verhältnisse bei der Verbreitung der Mykorhizen diejenigen Familien nicht in Frage, von denen nur je ein Vertreter untersucht worden ist, nämlich die Crassulaceae, Scleranthaceae, Oleraceae, Gentianeae, Hydrocharitaceae, Potamiae und Irideae. Es bleiben für diese Betrachtungen noch übrig die Droseraceae, Cruciferae, Papaveraceae, Rhinantaceae, Cypereae und Cariceae.

Dass die Rhinantaceen keine Verpilzung ihres Wurzelsystems zeigen, dürfte nicht weiter überraschen. Wie schon längst bekannt, sind diese Pflanzen in ihren Wurzeln mit denen von anderen lebenden Pflanzen verwachsen und ernähren sich aus diesen als Wurzelschmarotzer.

KOCH hat nun nachgewiesen[1]), dass bei Melampyrum pratense eigenartig ausgebildete Knöllchen die Funktionen übernehmen, die sonst von den Mykorhizen ausgeübt werden. Diese Knöllchen umwuchern die verwesenden oranischen Reste auf eigenthümliche Art und Weise und machen sich die Bestandtheile derselben zu Nutzen. Es ist also Melampyrum pratense ein höher organisirtes saprophytes Gewächs, welches in physiologischer Beziehung den mit Mykorhizen versehenen Pflanzen ausserordentlich nahe steht, und welches so eingerichtet ist, dass es zur direkten Nutzbarmachung des Humus des Mykorhizenpilzes nicht bedarf. Ob sich die anderen Rhinantaceen ebenfalls saprophyt ernähren, darüber zu entscheiden hat KOCH sich vorbehalten. Auf jeden Fall gebrauchen aber die Rhinantaceen nicht Pilze zu ihrer Ernährung aus dem Boden, gleichgültig ob sie sich parasitisch aus den Wurzeln anderer lebender Pflanzen oder saprophytisch durch Verdauung von verwesenden Pflanzenresten ernähren.

1) Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft 1887, Heft 8.

Aus der Familie der Droseraceae habe ich, wie oben angegeben, untersucht Drosera longifolia und Drosera rotundifolia. Beide sind von Torfwiesen im Grunewald resp. bei Negast entnommen. Die Untersuchung hat das Fehlen der Mykorhyzen ergeben. Es sind hier jedoch die Wurzelhaare so auffallend entwickelt, dass es sich verlohnen dürfte, auf dieselben näher einzugehen. Die Wurzeln sind in der Nähe des Vegetationspunktes ca. 0,3 *mm* stark und erreichen einen Durchmesser von 0,5—0,6 *mm*. Der centrale Strang, der ungefähr ein Drittel des Gesammtdurchmessers stark ist, wird eingeschlossen durch die aus lockerem parenchymatischen Gewebe bestehende Rinde. Die Membranen der Rindenzellen sind in der Nähe des Vegetationspunktes hellgelb, sonst aber immer schwarzbraun gefärbt. Die Epidermiszellen sind sehr zahlreich zu Wurzelhaaren ausgewachsen, die eine Dicke von durchschnittlich 0,01 *mm* und eine für Wurzelhaare bedeutende Länge besitzen. Ausgewachsene Wurzelhaare zu isoliren, ist mir nicht gelungen, so dass es mir nicht möglich ist, die vollständige Länge derselben anzugeben. Die Membranen der jüngsten Wurzelhaare sind, wie die der Rindenzellen in der Nähe des Vegetationspunktes, hellgelb, sonst ebenfalls dunkelbraun gefärbt. Diese Wurzelhaare durchwuchern die umgebenden abgestorbenen Theile von Sphagnum und anderen Moosen, indem sie nach Art von Pilzfäden durch die Zellmembranen hindurch wachsen, und bewirken dadurch, dass die Wurzeln mit einem dichten Mantel von verwesenden Pflanzentheilen umgeben sind (Figur 14). Diese Hülle umschliesst die Wurzel hosenartig und nur die jüngste Partie der Wurzel, an der die Wurzelhaare noch nicht zu einer so kräftigen Entwickelung gelangt sind, ist frei von den anhaftenden Pflanzentheilen. Wie die Wurzelhaare die todten Pflanzentheile durchwuchern, ist in Figur 15 dargestellt. Man sieht das Wurzelhaar von Drosera aus einer Tracheide von Sphagnum durch die Membran hindurch sich in die chlorophyllführende Zelle hineinziehen und aus dieser wieder in eine Tracheide. Nur dadurch, dass die Wurzelhaare auf diese Art die verwesenden Pflanzentheile durchsetzen, ist der innige Zusammenhang der Hülle mit dem Wurzelkörper möglich. Dieser Zusammenhang ist so stark, dass man den Mantel nicht entfernen kann, ohne die Rinde der Wurzel zu verletzen, ja beide sind mit einander sogar so fest verbunden, dass man ohne grosse Schwierigkeiten Querschnitte aus der Wurzel mitsammt der Hülle herstellen kann. Auf solchen Querschnitten sieht man die Pflanzenreste durch und durch durchzogen von den tiefbraunen Wurzelhaaren, die auf den ersten Blick hin viel eher den Eindruck von Pilzfäden, als den von Wurzelhaaren hervorrufen. Man wird zuerst erinnert an die ectotrophischen Mykorhizen der Cupuliferen und erst bei näherer Beobachtung sieht man, dass die Wurzel nicht von einem Gewebe von Pilzfäden umgeben ist, sondern dass man es hier mit Wurzelhaaren zu thun hat, die ausserordentlich kräftig entwickelt sind und den Wurzelkörper in dichtem Gewirr umschliessen. Zieht man die vollständige Durchwucherung der verwesenden Pflanzenreste durch diese Wurzelhaare in Betracht, so ist man wohl zu dem Schlusse berechtigt, dass einzig aus mechanischen Rücksichten, um diese winzigen Pflanzen zu befestigen, eine solche enge Verbindung des Wurzelkörpers mit der Umgebung vermittelst der Wurzelhaare nicht nöthig ist, sondern dass hier anscheinend eine Analogie vorliegt zu den Wurzelknollen von Melampyrum pratense. Es scheinen also hier die Wurzelhaare selbstständig die Ausnützung des Humus zu bewirken, wie sie von den Wurzelknollen von Melampyrum pratense thatsächlich vorgenommen wird. Mithin ist wahrscheinlich

der Mykorhizenpilz bei den Droseraarten ersetzt durch die Wurzelhaare. Sichere Beweise für diese Annahme lassen sich natürlich nur durch Kulturversuche bringen.

Die von mir untersuchten Cruciferen, Papaveraceen, Cyperaceen und Cariceen sind unter Umständen gesammelt, die, wie unten ausführlicher auseinandergesetzt werden soll, wohl eine andere Ernährung aus dem Boden als durch Mykorhizenpilz erklären lassen würden; anderseits darf dabei aber nicht verhehlt werden, dass Pflanzen aus anderen Familien, die unter denselben Verhältnissen gewachsen sind als die Cruciferen etc., die sogar dicht neben diesen gestanden haben, mit gut entwickelten Mykorhizen versehen gewesen sind. So haben z. B. Carex flava unmittelbar neben Mentha aquatica am Ufer des Borgwallsees, die beiden Eriophorum dicht neben Ranunculus acris und Comarum palustre, Capsella bursa pastoris neben verschiedenen als verpilzt befundenen Gramineen und Chelidonium majus neben Lycopus europaeus gestanden. Ungeachtet dessen lässt sich für diese Familien noch nicht die Frage entscheiden, ob sie sich unter allen Umständen selbstständig aus dem Boden ernähren können, oder ob sie unter gewissen Verhältnissen auf die Hülfe des Wurzelpilzes angewiesen sind. Zur Entscheidung dieser Frage würden umfassendere Untersuchungen nöthig sein.

Nun wäre noch die Frage übrig, ob die stets mit Mykorhizen angetroffenen Pflanzenfamilien sich nur mit Hülfe des Mykorhyzenpilzes ernähren können. Diese Frage ist auch nur mit Hülfe von Kulturversuchen zu beantworten. Für die Buche ist ja bereits nachgewiesen, dass sie ohne Mykorhizenpilz nicht gedeihen kann. Ob nun die übrigen Cupuliferen ebenso wie die Buche auf den Mykorhizenpilz angewiesen sind, ist damit natürlich nicht bewiesen, jedoch darf man das wohl annehmen, da stets bei den in guter Entwickelung befindlichen Cupuliferen Mykorhizen vorhanden gewesen sind. Dass die Orchideen nicht ohne Wurzelpilz bestehen können, dafür sprechen die Schwierigkeiten, mit denen die Kultur derselben verbunden ist, sowie der Umstand, dass sich stets die nahrungaufnehmenden Organe derselben verpilzt gezeigt haben. Deshalb ist man wohl zu dem Schlusse berechtigt, dass gewisse Pflanzenfamilien die Mykorhizen zu ihrer Ernährung durchaus nöthig haben.

Nun kommt es darauf an, die Beziehungen zwischen Verpilzung der Wurzeln und der natürlichen Lebensdauer der Pflanzen zu vergleichen. Ich habe nun beispielsweise verpilzt gefunden die Wurzeln von folgenden *einjährigen* Pflanzen: Myosurus minimus, Solanum nigrum, Lampsana communis etc., unverpilzt dagegen Avena sativa, Erysimum strictum und Papaver somniferum.

Von *zweijährigen* haben sich als verpilzt erwiesen: Daucus Carota, Chaerophyllum temulum, Pastinaca sativa, unverpilzt Daucus Carota und Petroselinum sativum. Von den *perennirenden* Gewächsen haben sich ebenfalls viele verpilzt gezeigt, wie Fragaria vesca, Caltha palustris, Phyteuma spicatum etc., ebenso aber auch viele unverpilzt, wie Achillea millefolium, Cheliodonium majus etc. Aus dieser kurzen Betrachtung geht bereits mit Sicherheit hervor, dass Beziehungen zwischen der Lebensdauer der Pflanzen und Verpilzung ihrer Wurzeln nicht vorliegen.

Hiernächst wären noch die Beziehungen der Mykorhizen zu den Standortsverhältnissen und die Unterschiede zwischen kultivirten und wildwachsenden Pflanzen zu studiren.

Was zunächst die Standortsverhältnisse anbetrifft, so kommen dabei natür-

lich nur die wildwachsenden Pflanzen in Betracht. Wir sehen zunächst die Wurzeln aller Wasserpflanzen unverpilzt, z. B. von Elodea canadensis, Ranunculus fluitans und Potamogeton natans. An die Wasserpflanzen reihen sich an diejenigen Pflanzen, die feuchten oder sogar überschwemmten Boden lieben, beziehungsweise von solchen Standorten genommen sind, als Iris Pseudacorus, Menyanthes trifoliata, Eriophorum angustifolium, Eriophorum latifolium, Carex paludosa, Carex flava, Comarum palustre, Epilobium parviflorum, Lythrum Salicaria, Parnassia palustris, Hydrocotyle vulgaris, Viola palustris, Caltha palustris, Ranunculus lingua, Mentha aquatica, Myosotis palustris und Valeriana officinalis. Diese Pflanzen haben, wie aus den oben gemachten Angaben über Standorte zu ersehen, auf feuchten Wiesen, an Gräben oder auf überschwemmtem Boden gestanden. Die ersten sechs von diesen Pflanzen haben sich als pilzfrei erwiesen, während die anderen mit Mykorhizen versehen waren. Berücksichtigt man nun die Eigenschaften der Mykorhizen als ernährende Organe, so scheint es, als ob den Pflanzen Iris Pseudacorus, Menyanthes trifoliata, Eriophorum angustifolium und latifolium, sowie Carex paludosa und flava, ebenso wie auch den Wasserpflanzen die durch die Wurzeln aufzunehmende Nahrung einzig in den im Wasser gelösten Stickstoffverbindungen zugeführt wird, während es den anderen Sumpfpflanzen nicht möglich ist, von den in dieser Form gebotenen Nährstoffen allein zu leben. Diese bedürfen noch der ihnen aus verwesenden Pflanzentheilen mit Hülfe des Wurzelpilzes gewonnenen und durch denselben ihnen zugeführten Nahrung.

Es folgen nun die eigentlichen Humuspflanzen. Von solchen wurden untersucht Fragaria vesca, Rubus Idaeus, Geum rivali-urbanum, Geranium Robertianum, Oxalis acetosella, Ranunculus acris, Ranunculus bulbosus, Lysimachia nemorum, Primula elatior, Solanum nigrum, Mentha arvensis, Majanthemum bifolium und Paris quadrifolia. Diese Pflanzen sind alle auf einem schweren, recht humusreichen, tiefschwarzen und bisweilen etwas feuchten Boden gewachsen und waren stets mit Mykorhizen versehen.

Auch diejenigen Pflanzen, die auf etwas leichterem, aber ebenfalls noch humusreichen Boden, nämlich auf trockneren, sandigen Stellen im Walde, auf Rasenplätzen, an trockenen Grabenrändern u. s. w. gewachsen sind, waren stets mit Mykorhizen versehen. Zu diesen Pflanzen gehören Sanicula europaea, Daucus Carota, Chaerophyllum temulum, Pimpinella magna, Pastinaca sativa, Hypericum perforatum, Ranunculus acris, Ranunculus repens, Veronica Chamaedris, Linaria vulgaris, Mentha arvensis, Stachys silvatica, Scutellaria galericulata, Ajuga genevensis, Campanula rotundifolia, Bellis perennis, Cichorium Intybus, Leontodon auctumnalis, Taraxacum officinale, Lampsana communis, Euphorbia Cyparissias, Asparagus officinalis, Anthericum Liliago, Aira caespitosa und Holcus lanatus.

Von den auf mehr sandigem Boden oder auf reinem Pflugsande gewachsenen Pflanzen sind von mir untersucht worden: Lotus corniculatus, Trifolium repens, Melilotus vulgaris, Potentilla Tormentilla, Hypericum perforatum, Echium vulgare, Thymus Serpyllum, Plantago lanceolatus, Jasione montana, Galium verum, Helichrysum arenarium, Achillea millefolium, Anthemis arvensis, Leontodon hispidus, Taraxacum officinale, Knautia arvensis, Holcus lanatus, Festuca ovina, Sedum acre, Scleranthus annuus, Brassica napus, Corynephorus canescens und Carex arenaria.

Von diesem Pflanzen sind auf reinem Sandboden, dem humöse Bestand-

theile vollständig fehlten, Corynephorus canescens, Carex arenaria und Brassica napus gefunden worden. Dass diesen Pflanzen die Mykorhizen fehlen, ist sicher nicht auffallend, weil der Wurzelpilz bei vollständigem Mangel an Humus im Boden überhaupt nicht vorhanden sein dürfte und den Pflanzen ja auch keinen Nutzen bringen könnte. Sedum acre und Scleranthus annuus standen schon auf einem etwas humösen Boden, jedoch waren auch ihre Wurzeln pilzfrei, auch sie können ohne die Pilze existiren. Alle anderen hier aufgeführten Pflanzen standen ebenfalls auf einem etwas humösen Boden, diese waren aber stets mit Mykorhizen versehen.

In diese Betrachtung sind noch hineinzuziehen die Pflanzen, die wildwachsend an Wege- oder Ackerrändern, Schutthaufen oder auch auf aufgeschüttetem Boden gestanden haben. An Acker- oder Wegerändern haben gestanden Trifolium repens, Holcus lanatus, Festuca ovina, Capsella bursa pastoris, Raphanus Raphanistrum, Poa trivalis und Bromus sterilis, und auf aufgeschüttetem Boden resp. Schutthaufen habe ich gefunden Lycopus europaeus, Erigeron canadensis, Chenopodium album und Erysimum strictum. Von diesen Pflanzen waren in ihrem Wurzelsystem verpilzt Trifolium repens, Holcus lanatus, Festuca ovina und Lycopus europaeus, die übrigen erwiesen sich als pilzfrei. Daraus geht hervor, dass die Pflanzen an diesen Standorten sich sowohl mit als auch ohne Wurzelpilz ernähren können.

Fasst man nun das über die Beziehungen der Mykorhizen zum Standorte der Pflanzen Gesagte zusammen, so sieht man, dass die Pflanzen, die ausschliesslich auf humösen Boden vorkommen, soweit meine Untersuchungen reichen, stets mit Mykorhizen versehen sind, wenn nicht eben andere Verhältnisse vorliegen, wie bei den Rhinantaceen und Droseraceen. Die Wasserpflanzen sowie die typischen Sandpflanzen, Carex arenaria und Corynephorus canescens, sind in ihren Wurzeln stets frei von Verpilzung. Uebergänge zwischen diesen beiden Gruppen bilden die Pflanzen, die auf überschwemmtem Boden, feuchten Wiesen, sowie auf sandigen aber doch noch humösen Boden oder auch an Wegerändern und Schutthaufen wachsen.

Von den theils in botanischen Gärten, theils in anderen Gärten oder auf Aeckern kultivirten oder auch in Wasserkulturen gezogenen Pflanzen habe ich untersucht und nicht mit Mykorhizen versehen gefunden: Lupinus luteus, Phaseolus vulgaris und multiflorus, Fragaria vesca, Daucus Carota (ein- und zweijährige Exemplare), Brassica nigra, Lepidium sativum, Papaver somniferum, Nigella sativa, Plantago lanceolata, Achillea millefolium, Leontodon alpinus, Avena sativa, Mentha arvensis und Mentha crispa. Von einigen dieser Pflanzen habe ich wildwachsende Exemplare untersucht und zwar von Daucus Carota, Plantago lanceolata, Achillea millefolium und Mentha arvensis, ferner die dem Leontodon alpinus so nahe stehenden Leontodon auctumnalis und Leontodon hispidus. Diese wildwachsenden Pflanzen habe ich sämmtlich verpilzt gefunden. Dieser Befund beweist, dass die im wilden Zustande stets mit Mykorhizen versehenen Pflanzen auch gedeihen können, wenn ihnen die aus dem Boden aufzunehmende Nahrung in einer anderen ihnen zusagenden Form geboten wird.

Von kultivirten Pflanzen habe ich jedoch auch einige mit Mykorhizen versehen gefunden, nämlich Bellis perennis, Cichorium Intybus und Asparagus officinalis. Daraus geht hervor, dass, wenn die Keime zum Mykorhizenpilz im Erdboden vorhanden sind, sich die Mykorhizen auch bei Kulturpflanzen ausbilden können. Wenn diesen Pflanzen auch Nahrung durch den Dünger zu-

geführt wird, so war der Boden an den betreffenden Stellen doch noch so reich an Humus, dass der Mykorhizenpilz wohl noch in seiner Eigenschaft als humusübertragendes Organ der Pflanze Dienste leisten konnte.

Inwieweit für eine oder die andere der hier besprochenen Pflanzen der Mykorhizenpilz in ähnlicher Weise unentbehrlich oder vortheilhaft ist, wie es FRANK für die Buche konstatirt hat, entzieht sich vorläufig der Beantwortung. Manche Erfahrungen sprechen sehr dafür, dass die Orchidaceen nicht ohne den Wurzelpilz leben können.

Doch ist es wohl denkbar, dass auch die Buche und die Orchidaceen sich künstlich ernähren lassen, wenn es gelingt, ihnen die aus dem Boden aufzunehmende Nahrung in einer anderen geeigneten Form zu bieten, wie es bei den anderen Pflanzen, die kultivirt werden und frei von Mykorhizen sind, der Fall ist. Diesen wird die für sie passende Nahrung in der Regel im gewöhnlichen Stalldünger oder im künstlichen Dünger zugeführt. Dass aber doch nicht alle Pflanzen sich so ohne Weiteres durch die gewöhnlichen Düngemittel ernähren lassen, lehren die gärtnerischen Erfahrungen. Für viele Pflanzen muss der Dünger erst eigenthümlich zubereitet werden, bevor er zu deren künstlicher Ernährung verwendet werden kann, auch in der Landwirthschaft werden für verschiedene Kulturpflanzen besondere Düngermittel gewählt. Ebenso dürfte es wohl gelingen, auch für die Buche und die Orchidaceen geeignete Mittel zur künstlichen Ernährung zu finden.

Vorläufig kennt man jedoch nicht nur für diese, ja wohl auch für viele andere Pflanzen, speciell Bäume, keine geeignete künstliche Nahrung. Jedoch hat man sich in der Praxis bei der Kultivirung der betreffenden Gewächse bereits zu helfen gewusst. Unsere Garten- und Forstwissenschaft haben sich schon längst, wenn auch unbewusst, die bessere Ernährung durch Wurzelpilze zu Nutzen gemacht. Beim Verpflanzen von Bäumen wird stets dem neuen Boden etwas von der Muttererde beigegeben. Mag der Baum auch schon dadurch Vortheil haben, dass er sich durch den allmählichen Uebergang besser an den neuen Boden gewöhnen kann, so ist es doch vielleicht auch von Bedeutung, dass mit dem neuen Boden etwas von den im Mutterboden vorhandenen Pilzen übertragen wird, welche dann im Stande sind, den Bäumen neue Mykorhizen zu erzeugen und so die vortheilhafte Ernährung zu bewirken.

Auf jeden Fall wird aber für die Zukunft bei Versuchen, schwer zu kultivirende Pflanzen zu ziehen, der Mykorhizenpilz eine nicht zu unterschätzende Rolle spielen.

Ob aber die künstliche Ernährung ohne Einfluss bleibt auf die normale Entwickelung der Pflanzen, das zu untersuchen, dürfte doch recht interessant sein. Es zeigen sich doch so viele Unterschiede zwischen wildwachsenden und kultivirten Pflanzen, als da beispielsweise sind die Hypertrophie der Wurzeln von Daucus Carota und der reiche Gehalt an ätherischen Oelen bei den wildwachsenden Menthaarten, gegenüber den kultivirten. Da diese Pflanzen, was klimatische Verhältnisse anbetrifft, unter sonst gleichen Bedingungen wachsen, können diese Unterschiede doch nur von der verschiedenen Ernährung herrühren. Bei der Ernährung ist aber in dem einen Fall der Wurzelpilz betheiligt, mithin dürfte diesem doch vielleicht ein gewisser Einfluss beim Entstehen dieser Unterschiede zuzuschreiben sein. Wie weit dieser Einfluss reicht, das können natürlich nur exacte Kulturversuche beweisen.

Ebenso wie die kultivirten Pflanzen, die ohne Mykorhizen leben, verhalten

sich die wildwachsenden Pflanzen, deren Wurzelsystem nicht verpilzt ist. Auch ihnen müssen die aus dem Boden aufzunehmenden Nährstoffe ohne Pilzhülfe zugeführt werden und dies ist in allen betreffenden Fällen sehr gut möglich. Die Wasserpflanzen sowie die Sumpfpflanzen können sich von den im Wasser gelösten mineralischen, sowie stickstoffhaltigen Verbindungen ernähren, die auf reinem Sandboden wachsenden von dem aus der Luft stammenden Stickstoff und den mit Hülfe der Wurzelhaare gelösten mineralischen Stoffen. Die an Wege- und Ackerrändern wachsenden Pflanzen können sich erhalten von den Nährstoffen, die beim Düngen der Aecker und auch aus dem Strassenschmutz ihnen zugeführt werden, und die auf Schutthaufen lebenden Pflanzen haben in dem Schutt, der doch auch vielfach als Düngermittel verwendet wird, Nährstoffe genug.

Was nun die geographische Verbreitung der Mykorhizen anbetrifft, so ist durch die vorstehenden Untersuchungen ihr Vorkommen in verschiedenen Gegenden um Berlin herum, in Pommern und auf Rügen konstatirt worden. Da die von mir gefundenen Mykorhizen sonst in allen Punkten mit den bisher bekannten übereinstimmen, darf man wohl als feststehend annehmen, dass sie auch in der geographischen Verbreitung nicht von ihnen abweichen, dass sie also nicht nur in allen Gegenden Deutschlands und Europas, sondern auch über andere Erdtheile verbreitet sein werden. Ebenso ist man wohl berechtigt anzunehmen, dass die Mykorhizen nicht nur bei den Pflanzen, bei denen ich sie konstatirt habe, und den Familien, denen diese Pflanzen angehören, vorkommen, sondern dass ihre Verbreitung eine noch viel allgemeinere ist.

Es ist jetzt wohl die Frage berechtigt, haben alle Pflanzen in ihren Mykorhizen einen und denselben Pilz? Diese Frage ist schon früher von FRANK aufgeworfen und mit Nein beantwortet worden. FRANK hat nämlich in Moorboden, in dem also stets mykorhizenerzeugende Pilze vorhanden sind, und gleichzeitig in Waldboden, der aus der Nähe von Buchen entnommen war, junge unverpilzte Buchenpflänzchen gebracht. Im Moorboden bildeten sich keine Mykorhizen, und die Buchen gingen allmählich zu Grunde, es war also der zum-Hervorrufen von Mykorhizen bei Buchen geeignete Pilz im Moorboden nicht vorhanden. Bei den in Waldboden gebrachten Pflänzchen entwickelten sich dagegen bald die Mykorhizen und diese Buchen kamen sehr gut fort. Auch ich möchte nach den bisherigen Beobachtungen annehmen, dass nicht alle Pflanzen denselben Mykorhizenpilz haben, oder dass der Pilz sich wenigstens erst entsprechend anbequemen muss. Sonst müssten doch die kultivirten perennirenden Gewächse aus dem Botanischen Garten, die schon über acht Jahre an derselben Stelle stehen und denen doch auch Humus zur Verfügung steht, mit Mykorhizen versehen sein. Vielleicht ist hier auch an den Umstand zu denken, dass von den vielen hier kultivirten Pflanzen so sehr wenig verwildern. Wenn auch noch andere Umstände das Verwildern der grössten Zahl von Acker- und Gartenpflanzen verhindern mögen, als da sind klimatische Verhältnisse und zu geringe Konkurrenzfähigkeit den anderen Pflanzen gegenüber, so dürfte doch vielleicht auch das Fehlen eines geeigneten Mykorhizenpilzes, der die Ernährung besorgen kann, eine Rolle dabei spielen.

Wenn auch zur Zeit noch viele Fragen, auf die ich bei meinen Untersuchungen gestossen bin, unentschieden bleiben müssen, so geht doch aus Allem hervor, *dass die von* FRANK *aufgestellten Thesen über das Wesen und die Bedeutung der Mykorhizen der Bäume durch die nunmehr erkannte Verbreitung der*

endotrophischen Mykorhiza eine noch viel weitere Ausdehnung erlangt haben, denn aus meinen Beobachtungen ergiebt sich das überraschende Resultat, dass auch die chlorophyllführenden Kräuter im Allgemeinen nicht ohne einen Wurzelpilz auftreten, und dass auch sie anscheinend nicht ohne diesen bestehen können, wenn ihnen nicht die aus dem Boden aufzunehmende Nahrung in einer anderen ihnen zusagenden Form geboten wird.

Erklärung der Abbildungen.

Figur 1. Querschnitt durch eine verpilzte Stelle von Paris quadrifolia (100). *c. S.* centraler Strang, *En* Endodermis, *r* kleinlumige dickwandige Rindenzellen, *R* weite dünnwandige Rindenzellen, die mit dem Mycelium des Mykorhizenpilzes angefüllt sind.

Figur 2. Stück der Oberfläche einer Pariswurzel (250). Ein brauner Pilzfaden kriecht auf der Oberfläche hin, zwängt sich senkrecht durch die Intercellularsubstanz der radialen Wände der Epidermiszellen und verbreitet sich in der tangentialen Wandung zwischen den Zellen der Epidermis und der subepidermalen Schicht.

Figur 3. Diagonaler Längsschnitt durch Zellen der Epidermis, der subepidermalen Schicht und der folgenden Rindenschichten aus einer Pariswurzel (250). Ein Pilzfaden zieht sich durch die Intercellularsubstanz der Epidermis und der subepidermalen Schicht und dringt ein in eine der dünnwandigen Rindenzellen, entwickelt sich hier zu einem dicht verschlungenen Knäuel und wächst, die Zwischenwand durchbohrend, in die benachbarte Zelle hinein.

Figur 4, 5, 6 und 7. Dünnwandige Rindenzellen aus Paris quadrifolia (250). Dieselben sind mit einem Pilzmycelium von mannigfacher Form gefüllt.

Figur 8. Rindenzellen aus einer Pariswurzel (450). Pilzschläuche durchdringen die Zellkerne.

Figur 9. Wurzelsystem von Ranunculus acris. Die dickeren Hauptwurzeln tragen die hier roth wiedergegebenen feinen in Mykorhizen umgewandelten Nebenwurzeln.

Figur 10. Stück eines Querschnitts aus einer feinen Wurzel von Ranunculus acris (100). Die der Endodermis zunächst liegende Rindenschicht ist mit Pilzgewebe gefüllt, welches sich auch in die anderen Rindenzellen hineinzieht.

Figur 11. Ende einer Hauptwurzel von Holcus lanatus mit den Verästelungen bei mässiger Vergrösserung. Die in Mykrohizen umgewandelten Wurzeltheile sind roth wiedergegeben.

Figur 12. Querschnitt aus einer ca. 0,09 *mm* starken Stelle einer Wurzel von Holcus lanatus (100). Die grossen Zellen der eigentlichen Rindenschicht sind mit Pilzgewebe angefüllt.

Figur 13. Wurzelende von Leontodon auctumnalis mit den Verzweigungen bei mässiger Vergrösserung. Die in Mykorhizen umgewandelten Wurzeltheile sind roth wiedergegeben.

Figur 14. Wurzel von Drosera rotundifolia bei mässiger Vergrösserung. Eine fest anhaftende Hülle von verwesenden Pflanzentheilen umgiebt hosenartig die Wurzel bis auf ihre jüngste Partie.

Figur 15. Sphagnumzellen (250). Ein Wurzelhaar von Drosera zieht sich pilzartig durch abgestorbenes Sphagnum, indem es die Membranen durchbohrend von Zelle zu Zelle wandert.

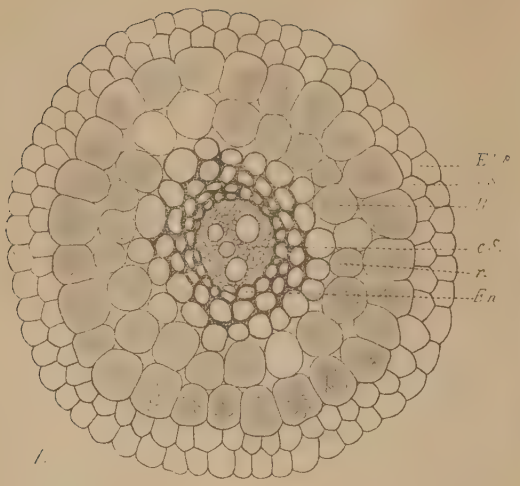
Lebenslauf.

Verfasser, ALBERT EDUARD JULIUS CHRISTIAN SCHLICHT, evang. Konfession, wurde am 13. August 1862 in Stralsund in Pommern geboren. Seinen ersten Unterricht erhielt er in einer Privatschule. Von Michaelis 1871 bis Ostern 1879 besuchte er das Gymnasium zu Stralsund, darauf widmete er sich der Pharmacie. Nach in Putbus auf Rügen zurückgelegter Lehrzeit conditionirte er von Ostern 1882 an als Apothekergehülfe zunächst weiter in Putbus und dann bis Ostern 1885 in den Städten Wilhelmshaven, Aurich, Suhl und Treptow a. d. Rega.

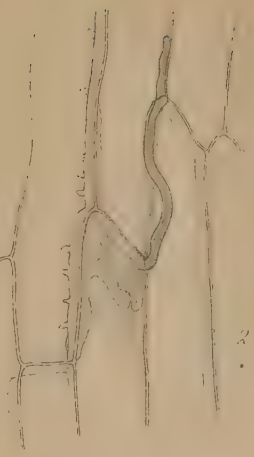
Ostern 1885 widmete er sich in Greifswald dem Studium der Pharmacie und bestand Herbst 1886 daselbst die pharmaceutische Staatsprüfung. Während des Wintersemesters 1886/87 war es ihm vergönnt, eine Assistentenstelle am Chemischen Universitätsinstitut zu Greifswald bekleiden zu können. Von Ostern 1887 an bis Michaelis 1888 setzte er seine Studien in Berlin fort und bestand am 12. Dezember 1888 zu Erlangen das Examen rigorosum.

Während seiner Studienzeit nahm er theil an den Vorlesungen und Uebungen, welche abhielten die Herren Professoren und Dozenten: LIMPRICHT, SCHWANERT, SCHMITZ, OBERBECK, BAUMSTARK, MÖLLER, TSCHIRCH, FRANK. und BÖRNSTEIN.

Allen diesen Herren und den Herren Apothekern E. RADANT in Putbus und R. RASSAU in Aurich stattet Verfasser auch an dieser Stelle seinen Dank ab für Belehrung und Anregung. Zu besonderem Danke fühlt er sich jedoch verpflichtet den Herren A. B. FRANK und TSCHIRCH, sowie den Herren LIMPRICHT und SCHWANERT, den Directoren des Chemischen Institutes zu Greifswald.



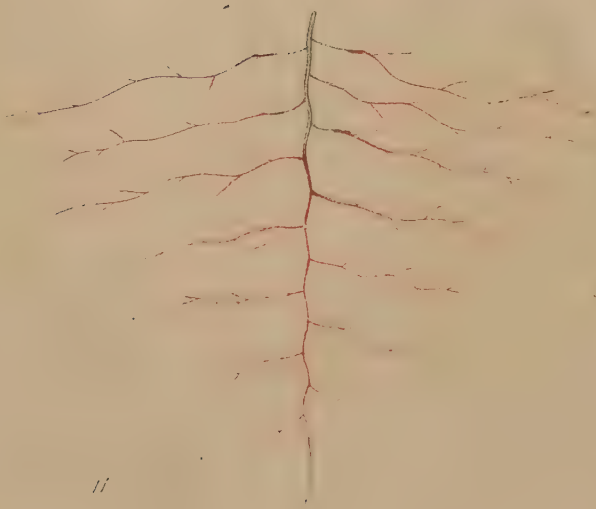
1.



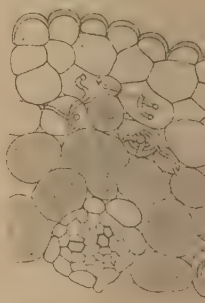
2.

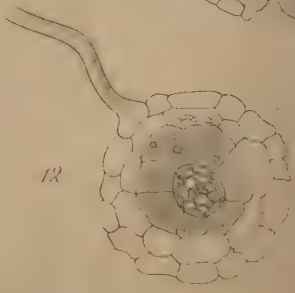
6.

7.

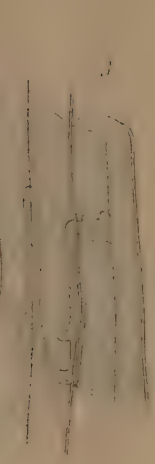


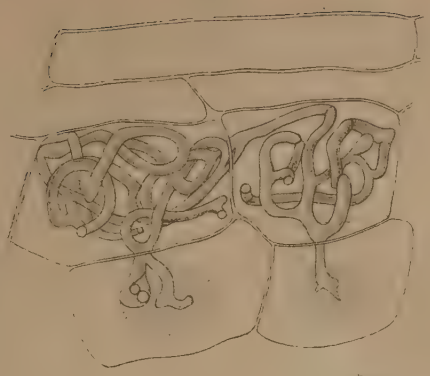
11

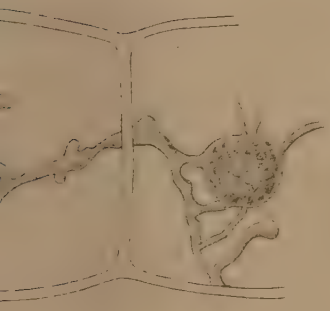


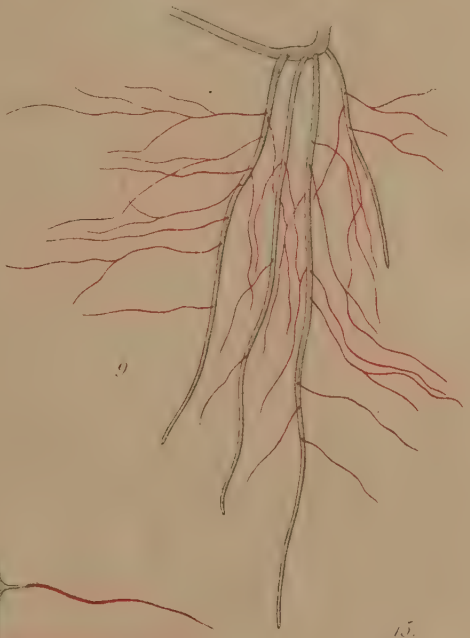


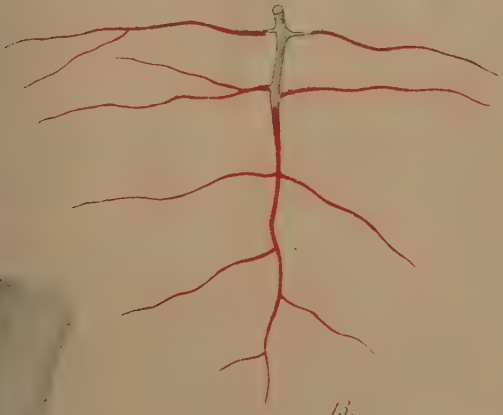
12

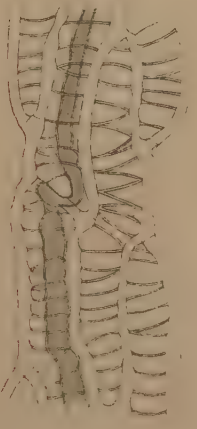












E. J. Butler.

Studien

an der

endotrophen Mycorrhiza

von Neottia Nidus avis L.

Von

Werner Magnus.

Mit Tafel IV, V u. VI.

(Separat-Abdruck aus den Jahrbüchern für wissenschaftliche Botanik, Band XXXV, Heft 2.)

Leipzig

Gebrüder Borntraeger.

1900.

Einleitung.

Während die Cellularforschung auf botanischem und zoologischem Gebiet im Allgemeinen eine ziemlich gleichmässige Ausbildung gefunden hat, ist die Zellpathologie bisher fast ausschliesslich von zoologischer Seite in Angriff genommen worden. Den zahlreichen und eingehenden Untersuchungen auf thierischem Gebiete stehen nur wenige verstreute Angaben über das Verhalten des Zellleibes krankhaft afficirter pflanzlicher Gewebe gegenüber. Auch die kurzen Zusammenstellungen, z. B. Vuillemin[1]) und Tubeuf (95)[2]) enthalten so gut wie garnichts über die feineren Structurveränderungen der Zelle, zumal der Zellkerne, auf deren Verhalten gerade von medicinischer Seite grosser Werth gelegt wird. Erst in jüngster Zeit haben französische und italienische Forscher: Cavara (96), Dangeard (97), Molliard (97), einzelne isolirt stehende Kernveränderungen pathologischer Gewebe bekannt gemacht.

Vorliegende Arbeit stellt nun den bis zu einem gewissen Abschluss gediehenen Theil von Untersuchungen dar, die sich über das gesammte Gebiet pflanzlicher Hypertrophien und Hyperplasien, die unter natürlichen Bedingungen vorkommen, erstrecken, und zumal dem cytologischen Verhalten der Gallen ihre Aufmerksamkeit zuwenden. — Ursprünglich hatte es sich nur darum gehandelt, zu prüfen, in wieweit etwa in solchen Hypertrophien anomale Karyokinesen auftreten, die ja in thierischen Tumoren in so eigen-

1) Considérations géner. sur les maladies des végétaux. 1895.

2) Die Autornamen mit Jahreszahlen beziehen sich auf das Literatur-Verzeichniss.

thümlichen Formen gefunden werden. Bin ich auch in dieser Frage zu einem negativen Resultate gekommen, wie auch vor mir schon Strasburger[1]) bei den Gallen von *Chermes abietina*, so ergaben sich doch in den zahlreichen, geprüften Objecten Veränderungen des Zellleibes, zumal des ruhenden Zellkerns, in ungeahnter Mannigfaltigkeit. Es zeigte sich aber auch zugleich, dass die auftretenden Veränderungen keineswegs nur zufälliger Natur sind, sondern in engster Beziehung zu der gesammten Biologie der Erscheinung stehen. So musste vorerst ein specieller Fall möglichst eingehend nach seinen gesammten anatomischen und biologischen Verhältnissen geprüft werden, was bisher in keinem der in Betracht kommenden Fälle geschehen ist.

Verschiedene Umstände liessen die *Mycorrhiza* von *Neottia Nidus avis* als für diese Specialdarstellung am geeignetsten erscheinen. Obgleich die gewaltig hypertrophirten Kerne der Orchideen-Mycorrhizen und zumal von *Neottia* vielleicht die bekanntesten Kernhypertrophien pflanzlicher Zellen sind, fehlt doch jeder Versuch einer Entwickelungsgeschichte oder Deutung dieser so höchst auffälligen Gebilde, ebenso wie jedes Studium über die Beziehungen zwischen Pilz und Plasma. — Eine Summe von interessanten Fragen muss sich bei der Untersuchung eines so innigen Zusammenlebens zweier Organismen ergeben, in einer Zelle, die nach allen Richtungen von einem Pilz durchzogen ist. Ihre Beantwortung schien nach zwei Richtungen Resultate zu versprechen. Einmal konnte durch genaue anatomische Feststellung der Veränderungen des Pilzes in der Pflanze die nothwendige Vorbedingung zum Verständniss des *Mycorrhiza*-Organismus geschaffen werden, andererseits musste das genaue Studium des cytologischen Verhaltens der Zelle und zumal der Zellkerne neue Thatsachen aufdecken, die für die allgemeine Kenntniss zellphysiologischer Vorgänge nicht ohne Bedeutung sein konnten. — Von den Orchideen wurde gerade *Neottia* gewählt, weil bei dieser rein saprophytischen Pflanze die Symbiose einen viel höheren Grad der Differenzirung hervorgebracht hat, als bei nicht saprophytischen Orchideen. — Das in den meisten Entwickelungsstadien völlig undurchsichtige Plasma macht allerdings bei *Neottia* eine Untersuchung sehr schwierig, sodass Janse (96) meinte, vor dem Studium solcher saprophytischen Pflanzen, als aussichtslos, warnen zu müssen. Eine ausgiebige Benutzung der

1) Zellbildung und Zelltheilung, 3. Aufl., 1880.

Mikrotomtechnik setzte mich jedoch über diese Schwierigkeit fast hinweg[1]).

Vorliegende Untersuchung wurde begonnen im Sommer 1898 im Bonner botanischen Institut auf Veranlassung und unter Leitung des Herrn Strasburger, fortgesetzt im Winter im Berliner botanischen Institut des Herrn Schwendener, beendigt im Sommer und Herbst 1899 wieder im Bonner Institut. Den genannten hochverehrten Lehrern, die mir jederzeit vielfache Anregung und Unterstützung zu Theil werden liessen, sage ich meinen verbindlichsten Dank. Gern danke ich auch meinem Onkel P. Magnus für seinen mir stets liebenswürdig gewährten Rath, Herrn E. v. Leyden für Anregungen auf dem Gebiet der thierischen Pathologie, meiner Schwester Magda Magnus für die Ausführung vieler Tafelfiguren.

Berlin, 1. März 1900.

Capitel I.

Der Pilz.

In der Wurzel von *Neottia Nidus avis* L. beobachtete anscheinend zuerst Schleiden (49) den eigenthümlichen Inhalt der Rindenzellen, ohne ihn jedoch als Pilz zu deuten. Nachdem Schacht (54 a, b) und Prillieux (56) die Pilznatur erkannt, unterscheidet Reinke (73) den Schleim und Pilzfäden in den inficirten Zellen, und 2 Sorten Schleim in den Wurzeln der Orchideen, gleichzeitig erkannte Drude (73) die Constanz des Auftretens des Pilzes und sein ausschliessliches Vorkommen in einer bestimmten Schicht. Pfeffer (77) bestätigt dies und weist darauf hin, dass hier wohl irgend eine Anpassung zur Nahrungsaufnahme vorliegen müsse. Mollberg (84) widmet den Pilzen der Orchideenwurzeln eine vergleichende Untersuchung. Während er einen Zusammenhang zwischen den Klumpen und dem Pilz nicht erkennt, beschreibt ihn Wahrlich (86) in einer bei de Bary an ca. 300 Orchideen angestellten Untersuchung, als aus dem Pilz entstehend. Frank (87)

1) Es wurde durchaus das im Bonner botanischen Institut gebräuchliche Präparationsverfahren angewendet, in Fixirung, Einbettung und Färbung. Am ausführlichsten beschrieben: Hof, Vegetationspunkt. Botan. Centralbl. 1898.

bezeichnet mit Recht, als er das Vorkommen von Pilzen in Wurzeln auch für die Orchideen symbiontisch zu deuten versucht, Wahrlichs Resultate als nicht genügend und giebt selbst einige neue anatomische Details, denen weitere späterhin zugefügt werden, Frank (91, 92). Die Arbeiten von Johow (85, 89) über die chlorophyllfreien Humusbewohner bringen wenig diesbezüglich neues. Janse (96) stützt sich in seinem eingehenden Werk über die Wurzelendophyten bei den Orchideen fast durchaus auf Wahrlich und versucht eine Systematik der Orchideen-Mycorrhizen. Dangeard und Armand (97, 98) erkennen im Allgemeinen richtig die Art der Antheilnahme des Pilzes bei der Klumpenbildung, bei *Ophrys arachnifera*. Chodat und Lendner (98) geben Einzelheiten über das Mycel in *Listera cordata*. Mac Dougal (99 a) untersucht wieder zahlreiche Orchideen, bringt aber, indem er sich vielfach auf Dangeard stützt, anatomisch wenig neues, jedoch vielfach Ungenauigkeiten.

Infection, Jugendzustand in der Zelle; Haustorienfrage.

Alle Wurzeln von *Neottia Nidus avis* L. sind, sobald sie eine geringe Länge, höchstens 1 cm, erreicht haben, ganz ausnahmslos von einem Pilz bewohnt. Dieser Pilz lebt ausschliesslich innerhalb der Zellen und in 3 höchstens 4 concentrischen Zellschichten des Rindenparenchyms (Querschnitt, Fig. 21 Tafel V). — Unter der nicht pilzbewohnten 1- oder 2schichtigen Epidermis der Wurzel mit isodiametrischen oder kaum axial gestreckten Zellen folgt eine subepidermale, ebenfalls unbewohnte, mit den Epidermiszellen radial gleich breite Schicht, deren Zellen jedoch tangential doppelt so breit und etwa doppelt bis dreifach so lang sind. Daran schliesst sich die erste pilzbewohnte Schicht mit Zellen von anfangs etwas tangential gestrecktem, später fast isodiametrischem Querschnitt, die meist etwa so lang sind, wie die der Subepidermis. Gleichlang den Zellen der äusseren pilzbewohnten Schicht sind die der mittleren pilzbewohnten, während sie Anfangs einen erheblich radial gestreckten, später mehr isodiametrischen Querschnitt besitzen. Die Zellen der innersten pilzbewohnten Schicht sind etwa ein halb mal so lang, wie die der beiden anderen, und sind im Querschnitt tangential kaum breiter, radial doppelt so lang, so dass diese Zellen wie strahlig mit ihrer längsten Achse nach der Wurzelachse gerichtet sind. Das darauf folgende meist stärkereiche

unbewohnte Rindenparenchym besitzt im Querschnitt fast durchaus isodiametrische Zellen, die etwa 3 bis 4 mal so lang, wie die inneren pilzbewohnten Zellen sind, so dass sich die pilzbewohnten scharf von den nicht bewohnten schon in ihrer Form unterscheiden. — Ein Eindringen auch nur einer oder der anderen Hyphe weiter in das Rindenparenchym hinein, geschweige in den Centralcylinder, konnte niemals beobachtet werden. Dies ist um so auffälliger, als nur die Wurzel eine so ausgeprägte Localisirung des Pilzes zu bewirken vermag. Denn im Rhizom können von der etwa 14 Zellreihen starken Rinde bis 6 Zellreihen inficirt werden, die dann keinerlei Unterschied in Grösse und Form gegen die nicht inficirten besitzen. Wie so die Stelle der Infection nicht fest geregelt ist, bleibt auch das Rhizom stellenweise im Alter überhaupt pilzfrei. — Auch in den Stengel dringt der Pilz bis zu einer geringen Höhe vor, und werden hier die 5 ersten Zellreihen unregelmässig inficirt. — Eine ähnliche strenge Begrenzung der vom Pilz bewohnten Schichten ist von allen Orchideenwurzeln bewohnenden Pilzen nur für *Lecanorchis javanica* (Janse 96) bekannt, wo nur 2 Zellreihen der Wurzel den Pilz enthalten. Bei allen übrigen Orchideen dagegen können wohl ziemlich alle Rindenzellen inficirt werden, während jedoch auch hier immer der Centralcylinder pilzfrei bleibt.

Nicht so ausschliesslich hyphenfrei, wie die inneren Schichten des Rindenparenchyms ist bei *Neottia* die 2schichtige Epidermis. Kann auch oft in einer wohl entwickelten Wurzel kaum eine Zelle gefunden werden, die Hyphen enthält, treten in anderen Wurzeln solche Zellen, wenn auch noch immer sehr spärlich, auf. Da nur durch diese Zellen die einzige Verbindung des Pilzes nach Aussen stattfinden kann, existirt eine solche regelmässige Verbindung, die bisher allgemein angenommen und theoretisch weit verwerthet wurde, nicht[1]). Gerade auf diesen Punkt gerichtete, an zahlreichen Wurzeln vorgenommene Untersuchungen haben mich zu der Ueberzeugung gebracht, dass diese wenigen Verbindungen nur als Infectionsstellen des Pilzes aufzufassen sind und unmöglich eine ernährungsphysiologische Bedeutung, sei es für *Neottia*, sei es für den Pilz haben können. — Nur in seltenen Fällen waren zahlreiche nebeneinander liegende Epidermiszellen von Pilzhyphen erfüllt, doch kennzeichnete diese fleckenförmigen Stellen stets die schon

1) Siehe Abschnitt: „Der Gesammtorganismus", p. 58.

makroskopisch sichtbare braune Färbung als Anomalien. — In diesen Fällen, wie in den, wo nur einzelne spärliche Zellen inficirt sind, enthielten fast immer die darunter liegenden Zellen der dritten Zellreihe, die die Verbindung zu der eigentlichen pilzbewohnten Schicht herstellen müssten, nur todte Pilzelemente.

Die wenigen, mit dem in der Pflanze lebenden Pilze im Zusammenhang stehenden äusseren Hyphen, mit wenigen Scheidewänden und nicht allzu häufiger Schnallenbildung, haben stärkere Membran und etwas grössere Breite (durchschnittlich 4 μ zu 3 μ), als die in die Pflanze eingedrungene Partie. Sie kriechen meist nur eine kurze Strecke auf der Wurzel, die so im Gegensatz zu den meisten Humuspflanzen eine sehr hyphenfreie Oberfläche besitzt. Weiter in das Substrat hinein konnten die Hyphen nicht verfolgt, auch kein Zusammenhang mit irgend einer höheren Fruchtform oder Sporenbildung entdeckt werden, obgleich mir Material ziemlich des ganzen Jahres zur Verfügung stand. — Auch innerhalb der Pflanze wurde unter den verschiedenen Differenzirungen des Pilzes nichts gefunden, was sich als Fructification hätte ansprechen lassen, weder Fusicladien, noch Sporangiolen, noch Vesikel (dagegen Mac Dougal 99a), während es über den Rahmen der Arbeit hinausging, durch Kulturversuche über die Species des Pilzes Aufschluss gewinnen zu wollen.

Die Infection von aussen her ist bei *Neottia* nicht die gewöhnliche für ein neugebildetes Wurzelorgan, sondern das früher inficirte Organ inficirt fast stets das neu entstehende. Daher enthalten die eben sichtbaren jungen Nebenwurzeln oft ein völlig ausgebildetes Pilzmycel. Dieses Hinüberwachsen wird bei *Neottia* durch die eigenthümliche Art der Nebenwurzelbildung erleichtert, die nicht, wie das für Nebenwurzeln die Regel ist, endogen, sondern typisch ectogen ist [so auch Irmisch (53) und Drude (73)[1]]. Das Rindenparenchym wird nicht durchbrochen, sondern wölbt sich bogig aus, sodass Epidermis wieder aus E. durch Theilung gebildet wird. So kann das Mycel, wie in der Wurzel selbst, weiter wachsen. — Dies geschieht meist von älteren zu jüngeren Zellen, von oben nach unten, kann aber bei Neuinfection auch umgekehrt erfolgen. Vom Vegetationspunkt bleibt der Pilz im Allgemeinen gleich weit entfernt, etwas weiter jedoch bei einer

1) Eine interessante Ausnahme mehr zu den von van Tieghem, Traité botan. 3. Edit., gegebenen, für die aber die Bezeichnung „radicelles gemmes“ nicht recht passt.

lebhaft wachsenden Wurzel, als bei einer, die ihr Wachsthum ganz oder fast eingestellt hat.

Beim Weiterwachsen wird die Hyphe gemäss ihres rein intracellularen Wachsthums sofort innerhalb der nächsten Zelle sichtbar. Dennoch fragt es sich, ob die Hyphe direct in den Zellleib eindringt, oder ausserhalb bleibt, d. h. beim Weiterwachen die Hautschicht nicht durchsticht, sondern sie vor sich hertreibt und sich in dem so gebildeten Zwischenraum befindet. Letztere Ansicht vertritt Janse (96) und Groom (95b); ersterer neigt sich Dangeard (97) zu. In der That ist der Pilz, von seinem Eintritt in die Zelle an, stets lückenlos, auch wenn er sich in dem ursprünglichen Saftraum verzweigt, von einer feinen Plasmaschicht überzogen, so dass ein einfaches Durchwachsen des Plasmas nicht anzunehmen ist. Andererseits verzweigt sich der Pilz bei *Neottia* in einem so dichten Knäuel, dass, wollte man an eine Ausbuchtung glauben, man der Hautschicht eine fast unbegrenzte Dehnbarkeit zuschreiben müsste. Die Erscheinung ist wohl so aufzufassen, dass das Protoplasma den Pilz, wenn er im Begriff ist, die Hautschicht zu durchstossen, sofort mit einer neuen Grenzschicht zu umgeben vermag.

Nach seinem Eindringen in die Zelle verzweigt sich der Pilz anfangs in noch gleich oder fast gleich starken Hyphen, ohne dass das Alter der Zelle einen Einfluss auf die Art seines Auftretens hätte. Diese Zweige scheinen in ihrer Wachsthumsrichtung keinem Gesetze zu gehorchen; regellos durchziehen sie die Zelle nach allen Richtungen, insbesondere werden die Hyphen von keinem Theil der Zelle besonders angezogen, zumal nicht vom Kern.

Eine unzweideutige Feststellung dieser Thatsache scheint von einiger Wichtigkeit. Seitdem Rosen[1]) zum ersten Mal bei *Puccinia Asarina* auf *Asarum europaeum* gefunden hatte, dass: „die in die Zelle eindringenden, als Haustorien dienenden Hyphenäste fast stets auf den Kern der Nährzelle zuwachsen, sich fest an ihn schmiegen oder sogar umschlingen", ist dies Verhalten der Haustorien für viele andere Fälle bestätigt worden[2]). So wurde ihm Allgemeingültigkeit zugesprochen[3]) und weiterhin behauptet, das Haustorium lege sich deshalb stets an den Kern an, weil in ihm „das Centrum der metabolischen Ernährungsthätigkeit gegeben sei" und der Pilz so im

1) Rosen, Beiträge z. Kenntniss d. Pflanzenzelle I, Cohn's Beiträge V, 1892.

2) Von Vuillemin, Harper, Dangeard, zumal Sappin-Truffy u. A.

3) So hält z B. Atkinson es für wichtig genug, eine entsprechende Abbildung in seiner kurzgefassten „Elementary Botany" 98, zu geben.

Stande wäre, aus der directen Quelle die Nahrungsstoffe aufzunehmen, die sonst zur Ernährung der Zelle bestimmt gewesen wären. Zur Bekräftigung dieser Auffassung werden auch die häufigen Verzweigungen[1]) resp. Buckelungen[2]) und krampfadrigen Anschwellungen des Haustoriums in der „Sphäre der Wirksamkeit der Kerne angeführt", da durch die Oberflächenvergrösserung die Nahrungsaufnahme begünstigt würde. Aehnliche Ansichten werden für endotrophe Mycorrhizen von Dangeard (97), Vaughan Jennings (99) und sehr scharf von Mac Dougal (99a) ausgesprochen. Müssen doch auch gerade, wenn es sich wirklich um Aufnahme von Assimilationsproducten handelt, hier die Verhältnisse besonders klar liegen. Bei *Neottia* wachsen nun in diesen Zellen die Hyphen so, als wäre gar kein Zellkern vorhanden[3]).

Sollten aber die Beobachtungen bei *Neottia* allgemein verwerthbar sein, mussten auch die Haustorien parasitärer Pilze in ihren Beziehungen zu den Zellkernen der Wirthspflanze untersucht werden[4]). Die Vermuthung, dass vielleicht einzelne Bilder zu sehr als typisch genommen werden, traf nicht zu. Oft lagen etwa die Hälfte der Haustorien eines Objects dem Kern an, während noch manche auf dem Wege zum Kern sein konnten. Weiter wurde oft eine ausgesprochene Tendenz des Pilzes beobachtet, quer durch die Zelle auf den Zellkern zu wachsen, etwa bei *Puccinia Xanthii* (Fig. 45a, b, Taf. VI) oder *Roestelia cancellata* (Fig. 44, Taf. VI). Dennoch lassen gewisse Erscheinungen vielleicht eine ganz andere Deutung zu. Aus vielen Beobachtungen ist es mir unzweifelhaft, das die Haustorien völlig entsprechend wie auf den Zellkern, auch auf jeden anderen, zufällig in der Zelle befindlichen festen Körper, wie z. B. auf Stärkekörner zuwachsen. So soll vielleicht nur die Aufnahme der festen Bestandtheile der Zelle überhaupt erreicht werden. Denn ohne solche Haustorien bliebe der Pilz jedenfalls auf solche Nährstoffe angewiesen, die er auf osmotischem Wege dem Zellleib zu entziehen vermag. Und wie grossen Widerstand der Kern einer spontanen Auflösung entgegensetzt, konnte oft an faulenden Pflanzentheilen, oder im Herbst an abgefallenen Blättern

1) Sappin-Truffy bei Uredineen.

2) Vuillemin bei *Aecidium punctatum*.

3) Dass aber der Zellkern dem fertigen oder sich bildenden Klumpen in der That anliegt, wird ganz anders zu erklären sein.

4) Ich wurde hierbei vielfach angeregt und durch Material unterstützt von P. Magnus.

beobachtet werden, in denen der Kern oft lange Zeit die Degeneration des gesammten übrigen Plasmas überlebt. Dafür aber, dass das Haustorium sich den Zellkern selbst nutzbar macht und ihm nicht wie einer Amme die Nährstoffe, die für die Zelle bestimmt waren, entzieht, spricht, dass schliesslich ausnahmslos der befallene Zellkern degenerirt. Andererseits konnte ich z. B. bei *Puccinia leucospermum* auf *Anemone nemorosa* beobachten, dass die keulenförmigen Haustorien mit typisch zwei Kernen (Fig. 43, Taf. VI) erst relativ spät, zu einer Zeit, wo schon die Spermogonien ausgebildet und die Aecidien bereits in der Anlage vorhanden sind[1]), eindringen, — sich dann allerdings immer fest an den Kern anlegen und ihn so ausbuchten —, so dass die Haupternährung des Pilzes schon vorher osmotisch durch die intercellularen Hyphen erfolgt sein muss. — Mag sich auch durch Umstände anderer Art in anderen Fällen ein längeres Lebenbleiben der Kerne bei Berührung mit dem Haustorium ergeben, folgt doch umgekehrt für *Neottia* und die anderen Mycorrhizen, dass, wenn die Hyphen nicht auf den Kern zuwachsen, noch nicht zu schliessen ist, dass nicht ein sehr reger Stoffaustausch zwischen den Symbionten stattfindet. — In den krampfadrigen Verzweigungen und Buckelungen aber, die häufig, wenn auch keineswegs nur in der Nähe der Kerne auftreten, vermag ich keine zur Nahrungsaufnahme besonders geeigneten Organe zu erkennen, da besonders bei den Buckelungen die minimale Oberflächen-Vergrösserung hierfür kaum in Betracht kommen kann. Hingegen scheint ein solch unförmliches Gebilde (Fig. 46, Taf. VI von *Puccinia Xanthii*) eine ungeheure Materialverschwendung zu erfordern, deren Nutzen für den Pilz in keiner Weise zu ersehen ist. — Die auffallende Aehnlichkeit dieser Bildungen mit den „Sporangiolen" der Mycorrhizen lässt die Bedeutung der Erscheinung in einer ganz anderen Richtung suchen. Jene Sporangiolen, die in so vielen endotrophen Mycorrhizen, jedoch nie in Orchideen, auftreten, stellen nach Janse's (96) Auffassung, die ich mir durchaus zu eigen mache, Degenerationsproducte des Pilzes dar, die von der Pflanzenzelle erzogen werden, um von ihr später aufgelöst und zu ihrer Ernährung verwendet zu werden. — So ist wohl der Nutzen dieser Gebilde parasitärer Pilze auch nicht auf Seiten des Pilzes, sondern auf Seiten der Wirthspflanze zu suchen. Der chemische Reiz,

1) Zu dieser Untersuchung sind nur gerade über dem Boden hervortretende, kaum über 1 cm grosse Blätter geeignet.

durch welchen die Pflanze resp. der Zellkern den Pilz veranlasst, in dieser Form zu degeneriren, wäre danach eine wichtige Waffe in Kampfe der Zelle gegen den Parasiten. Sie vertheidigt sich, indem sie dem Gegner die Kraft raubt, ihn unschädlich macht, ohne ihn noch zu tödten. — Nur wenige Schritte braucht dann in der Entwickelung weiter gegangen zu werden. Handelte es sich anfänglich nur darum, den Pilz durch die Degeneration abzuwehren, tritt diese Fähigkeit direct in den Dienst der Pflanze, sie lässt die „Sporangiolen" entstehen, die ihr nun selbst zur Nahrung dienen. So ist es interessant, dass auch Groom (95b) bei *Thismia* nur in den Zellen, in denen die „Sporangiolen"bildung stattfindet, eine Richtungsbeeinflussung der Hyphen durch den Zellkern constatirt, während zu gleicher Zeit die sehr bald aufgelösten Eiweiss- und Zellkern-haltigen Pilzschläuche, jene Sporangiolen, entstehen. Vielleicht kann auf diese Weise die bisher ganz isolirt stehende Sporangiolenbildung im Zusammenhange mit vielfach auftretenden Erscheinungen an endophyten Pilzen gebracht werden.

Die Differenzirung ohne Degeneration.

Nicht lange bleibt der Pilz in seinem sozusagen „meristematischen" Zustand, in dem seine Hyphen gleichmässig und anscheinend regellos die Zelle durchqueren. So besteht in einer wachsenden Wurzel diese Zone nur aus wenigen Zelllagen, während sie bei einer ganz oder fast ausgewachsenen Wurzel überhaupt fehlen kann. Dann sind nur noch die Resultate der Differenzirung zu sehen. — Es zeigte sich sehr bald, dass keineswegs im späteren Alter alle Zellen den sogenannten „Schleimklumpen", sei es allein oder von Hyphen umgeben, besässen. Vielmehr treten bis zuletzt Zellen auf, die keine Spur solcher Klumpenbildung besitzen, sondern nur Hyphen, die aber durch ihre verschiedene Stärke sehr eigenthümlich aussehen. In typischen Fällen sieht man in solchen Zellen auf medianem Längsschnitt durch die Wurzel (Fig. 1 Taf. IV) ausgesprochene Ringe von Hyphensträngen, deren Durchmesser wenig kleiner als der der Zelle, so dass die Hyphen mehr oder weniger dicht der Zellwand entlang laufen. Sie besitzen meist normales, etwa 3 μ, oft aber auch erheblich breiteres Lumen, bis 6,5 μ. In der Mitte des Ringes durchkreuzen in wirrem Knäuel sehr feine und dünnwandige Hyphen, etwa 1—1,5 μ breit, das ziemlich dunkele Plasma, das meistens in seiner Mitte den Kern der Wirthszelle ent-

hält. — Ist auf dem Wurzelquerschnitt die Mitte der Zelle getroffen, so liegen an beiden Seiten der Zelle die Querschnitte der Hyphen (Fig. 2 Taf. IV), während ein Schnitt durch den oberen oder unteren Rand des Hyphenringes die parallel laufenden auf beiden Seiten abgeschnittenen Hyphen zeigt. Da anfangs in der Zelle von einer regelmässigen Anordnung nichts zu sehen war, so entstehen die Ringe wohl so, dass die Hyphen bei ihrer späteren Wandverdickung in elastische Spannung gerathen und nachträglich eine gewisse Lageveränderung in der Richtung der grössten Ausdehnung erfahren, die durch die einseitig bevorzugte Wachsthumsrichtung der Zelle mit beeinflusst wird. So bilden die Hyphen auch, wenn die Zelle einmal einen mehr isodiametrischen Querschnitt besitzt, nicht mehr einen Ring, sondern umkreisen hohlkugelförmig die Zelle. Wenn auch diese spätere Differenzirung schon in dem Jugendzustand des Pilzes in etwas vorgebildet sein mag, ist jedenfalls nicht daran zu denken, dass diese Ringhyphen erst nachträglich bündelförmig hineinwachsen. Vielmehr sind sie sicherlich die zuerst eingewanderten Hyphen, und die feinen Hyphen in der Mitte, die aber auch nach der Zellwand hindurch gehen können, ihre erst später gebildeten Verzweigungen. Letztere sind durch ihre kolossale Oberflächenvergrösserung sehr zur Nahrungsaufnahme geeignet, und mögen sie entsprechend ihrer voraussichtlichen physiologischen Bedeutung als „Haustorienhyphen“ bezeichnet werden. — In den der Wurzelspitze entfernteren Zonen — die sehr schwankende Grenze lässt sich hier auch nicht annäherungsweise angeben — treten in diesen Zellen einige neue Erscheinungen auf. Oft beginnen die ringbildenden Hyphen auszusprossen, entweder nach allen Seiten (Fig. 10 Taf. V) oder einseitig (Fig. 11 Taf. V) und zwar in diesem Falle immer nach innen. Solche Hyphen ähneln oft durchaus den von Reinhardt beschriebenen[1]), so dass man hier, wie dort experimentell festgestellt wurde, eine chemische Reizwirkung — etwa vom Kern (?) — annehmen muss. — Die Ringhyphen vermögen sich, zumal in älteren Wurzeltheilen, noch viel eigenthümlicher umzugestalten. Die Einzelheiten des Vorganges lassen sich am besten auf Querschnittsbildern verfolgen: zuerst wird eine Hyphe von anderen manchmal kaum dünneren umgeben (Fig. 12 Taf. V), die meist nicht der Hyphe selbst ent-

1) Reinhardt (92), Jahrb. f. wiss. Botan. XXIII. Herr Dr. R. machte mich liebenswürdig darauf aufmerksam.

springen, sondern wohl zur Hauptsache den die Zelle durchsetzenden Haustorienhyphen entstammen. Die Hyphen legen sich dann fester und fester zusammen (Fig. 13, 14 Taf. V). Schliesslich sind die Hyphen völlig lumenlos geworden, gequollen und collabirt (Fig. 15 Taf. V). Oft scheint auch solche Berindung in 2 Abschnitten zu erfolgen, denn häufig sind 2 Schichten scharf gegeneinander abgesetzt (Fig. 17 Taf. V). Auch kann die Umrindung so weit gehen, dass der Radius des völlig ausgebildeten Mantels, der also keinerlei Lumen mehr besitzt, die 3- bis 4fache Dicke des Lumendurchmessers hat, der Durchmesser der ganzen Hyphe ihr Lumen also etwa 8 mal übersteigen kann. Die Oberflächenansicht zeigt jetzt eigentlich nur eine zusammenhängende mit vielen zackigen Ausbuchtungen versehene Membran (Fig. 16 Taf. V). Die mittlere Hyphe collabirt niemals, wohl kann aber auch noch eine der umrindenden Hyphen erhalten bleiben. — Es ist auffällig genug, dass diese ganze Erscheinung bisher anscheinend völlig übersehen wurde, während ich sie, wenigstens für ein bestimmtes Alter der Wurzel, als durchaus constant auffand. Eine Verwechselung mit einem anderen parasitären Pilz ist völlig ausgeschlossen. Im Gegentheil bin ich geneigt, gerade den umrindeten Hyphen eine sehr wichtige Rolle für die Biologie der ganzen *Mycorrhiza* zuzuweisen. Während am Ausgange der Vegetationsperiode, etwa September, nach und nach in diesen Zellen alle feine Hyphen absterben, bleiben schliesslich nur noch die Ringhyphen am Leben. Ist aber die Wurzel in Fäulniss übergegangen, so sind auch viele oder alle von den Ringhyphen abgestorben, nur gerade die umrindeten Hyphen habe ich ausnahmslos lebend angetroffen. Mit einem Wort, sie sind das einzige, was die absterbende Wurzel überlebt und von dem sonst überhaupt abgestorbenen Pilz wieder ins Freie gelangt. Wurden auch nie Auszweigungen der Rindenhyphen gefunden, sind sie wohl doch als Dauerzustände — Cysten, Sclerotien — anzusprechen, wohl geeignet durch ihre dichte Umhüllung zu überwintern, im Frühjahr zu neuem Leben zu erwachen und neue *Neottia*-Pflanzen zu inficiren.

Diese hier geschilderten Zellen, die immer jenen Ring dickwandiger Hyphen mit verschiedenen Modificationen und den Knäuel feiner mittlerer Hyphen besitzen, diese Zellen, in denen der Pilz nie degenerirt, sondern bis zuletzt am Leben bleibt, sollen fortan als „Pilzwirthzellen“ bezeichnet werden.

Die Differenzirung mit Degeneration.

Die Hyphen verwandeln sich aus ihrem Jugendzustand in der Zelle keineswegs immer zu den Differenzirungen der „Pilzwirthzelle", noch häufiger tritt, und zwar in allen anderen pilzbefallenen Zellen, eine Modification auf, die ihren Höhepunkt in der bekannten Klumpenbildung findet. — Die Hyphen der junginficirten Zellen verzweigen sich weiter und weiter regellos und werden zumal auch jetzt vom Zellkern durchaus nicht beeinflusst. Schliesslich ist die ganze oder fast die ganze Zelle von einem mehr oder weniger dichten Knäuel verflochtener Hyphen erfüllt. (Fig. 3 Taf. IV) [1]). Oft sind die Hyphen so dicht durcheinander gewunden, dass sie den Eindruck eines pseudoparenchymatischen Gewebes machen, doch ist auch dann noch jede einzelne Hyphe scharf zu erkennen. Die Hyphen, durchschnittlich 2 μ breit, bleiben immer dünnwandig und haben ganz besonders wenig Scheidewände. In ihrem stark plasmatischen Inhalt enthalten sie meist zahlreiche sich stark mit Anilin färbende Körnchen (Fig. 3 Taf. IV). Ob dies organisirte Pilzkerne sind, oder, wie wahrscheinlicher, unorganisirte Eiweisssubstanz, ist ohne Weiteres nicht zu entscheiden, da auch die typischen Pilzkerne z. B. der ringbildenden Hyphen, von denen wohl immer zwei in jedem Abschnitt liegen, ganz besonders klein sind. Jedoch möchte ich aus der Art ihres Auftretens schliessen, dass die sich sehr scharf, fast bakterienartig tingirenden Körper, die oft im Beginn der Klumpenbildung sehr deutlich hervortreten (Fig. 5, 8 Taf. IV), hypertrophirte und in Chromatolyse begriffene Pilzkerne sind. — Während diese Hyphen gewöhnlich sogleich in diesem viel geringeren Stadium der Ueberernährung, der Degeneration durch das Plasma anheimfallen, vermögen sie noch in seltneren Fällen sich ganz und gar mit einer eiweissartigen Substanz zu erfüllen, die eine starke Anziehungskraft für Anilinfarben besitzt, so dass sie im mikroskopischen Bilde [2]) sehr in die Augen fallen. (Fig. 4 Taf. IV). Sie haben auch häufiger nicht allzu bedeutende Buckelungen und wie beginnende Verzweigungen, die etwas weitlumiger als gewöhnlich sind, auch ist die Wanddicke öfters ein wenig stärker. Solche Eiweisshyphen erfüllen dann meist eine

1) Das Plasma wurde der Deutlichkeit wegen in der Figur fortgelassen.

2) Bei starker Vergrösserung sieht man oft deutlich einen eigenthümlich gezackten Protoplasmaschlauch (Fig. 18 a, b Taf. V), wohl durch Fixirung hervorgerufen.

ganze Zelle, treten aber auch nur unter anderen Hyphen in einer Ecke der Zelle auf, wie als ganz einzelne Hyphen zwischen den gewöhnlichen. Da ausnahmslos alle diese Hyphen der Degeneration und Klumpenbildung anheimfallen, stellt diese Form der Hyphen wohl den letzten Kampf lebenskräftiger Hyphen gegen den Untergang durch das Plasma dar. Länger wie gewöhnlich vermögen sie die Uebernährung in der Pflanzenzelle auszuhalten, und durch neue Austreibungen sich zu regeneriren suchen; vergebens, auch sie sind alle dem sicheren Tode geweiht.

Irgend welche andere Modificationen der Hyphen in diesen Zellen konnten niemals bei *Neottia* gefunden werden. Zumal wurde nie gesehen, wie das von Frank allgemein behauptet, von Chodat für *Listera cordata* beschrieben wurde, dass die Eiweisssubstanz in alten Hyphen verschwände, so dass im Alter inhaltslose verflochtene Hyphen sichtbar wurden, die bisweilen den ganzen Innenraum durch Wachsthum anfüllten. Die bei *Neottia* auftretenden inhaltsarmen Hyphen gehören fraglos der ganz anderen Entwickelungsreihe des Pilzes, der der Pilzwirthzellen an, die aber, wie wir sahen, nie eiweisserfüllte Hyphen besassen. Weder sie, noch irgend eine andere Modification der Pilzwirthzellen, wie Ringhyphen, berindete Hyphen, feine Haustorienhyphen treten jemals in diesen Zellen auf, ebensowenig, wie jemals in den Pilzwirthzellen solche reich verzweigten, dünnwandigen oder Eiweisshyphen gesehen wurden, oder gar die Klumpenbildung.

In ziemlicher Nähe der Wurzelspitze enthalten ausnahmslos und nur die vom Pilz bewohnten Zellschichten bei *Neottia* grosse, eigenthümlich durchscheinende gelbbraune Klumpen. Sie sind meist unscharf nach Aussen abgegrenzt und ziemlich fein concentrisch geschichtet, während sich auch oft ein breiterer, hellerer Rand von einem dunkleren Innern abhebt. Neben dem Klumpen enthalten die Zellen oft keine Pilzhyphen, aber auch häufig einen Kranz verflochtener Hyphen (Fig. 9 Taf. IV), die durch einen klaren Raum vom Klumpen getrennt oder mit ihm verklebt sein können. Jedoch sind die Klumpen nie durch jene geradlinigen Fäden verbunden, die bei den Klumpen vieler anderer Orchideen häufig auftreten. (Fig. 7 Taf. IV, *Cephalanthera*). — Der Klumpen liegt nicht immer in der Mitte der Hyphen, sondern ist oft nach irgend einer Zellwand hingerückt, so dass er dann nur von drei Seiten von Hyphen eingeschlossen wird. In sehr seltenen Fällen[1]) wird mehr wie ein,

1) Ich sah dies während meinen ganzen Untersuchungen nur zweimal.

aber höchstens zwei oder drei Klumpen gebildet. Je älter die Wurzel wird, desto mehr überwiegen an Zahl die hyphenlosen, die hyphenumwundenen Klumpen, so dass zuletzt ausschliesslich oder fast ausschliesslich nur fast die ganze Zelle erfüllende Klumpen übrig bleiben. Augenscheinlich werden also die umgebenden Hyphen mit zur Vergrösserung des Klumpens verwendet, wie dies auch schon von Wahrlich (86) angegeben wurde. — Da diese „Schleimklumpen", wie sie auch genannt werden, zu vielfachen Verwechselungen mit dem gewöhnlichen Schleim der Orchideen, Salep, Anlass gegeben haben und, wie mir scheint, hierdurch besonders die ersten Stadien der Klumpenbildung nicht erkannt wurden, ist ein scharfes Unterscheidungsmittel sehr wünschenswerth. Neben manchem anderen erwies sich als solch untrügliches Mittel, wodurch auch zugleich die etwaige Mitwirkung des Saleps ausgeschlossen wurde, das Verhalten beider Gebilde im Polarisationsmikroskop. Während der Salepschleim bei gekreuzten Nicols aufleuchtet[1]), sich als optisch activ erweist, leuchten die Klumpen in keinem Entwickelungsstadium auf, zeigen so ihre optische Inactivität. — Mit Chlorzinkjod färbt sich der Klumpen gelblichgrau, während zu gleicher Zeit alle Hyphen intensiv gelb, die Zellwände intensiv dunkelviolett gefärbt werden, steht also in seinem Verhalten etwa zwischen beiden. Es treten dabei oft dunkelbraun gefärbte Punkte, grössere und kleinere auf, die während der Einwirkung des Reagens noch wachsen. Sehr instructiv ist das Bild des Klumpens nach Einwirken von concentrirter Schwefelsäure, oder beim Kochen in alkoholischem Kaliumhydroxyd. Der äussere Rand zeigt dann oft deutlich längere Fasern, die nach der Mitte zu kürzer und kürzer werden, so dass man denken könnte, Stäbchenbakterien vor sich zu haben, doch kann man an ihnen noch manchmal Verzweigungsstellen erkennen.

Die Bedeutung dieser Erscheinungen folgt unmittelbar aus der Art der Klumpenbildung, die bei *Neottia* in ihren allgemeinen Zügen immer in gleicher Weise vor sich geht. Die rings vom Plasma umgebenen Hyphen beginnen zu collabiren, indem sie nach und nach ihres Inhaltes beraubt werden, gleichzeitig erleiden die Wände eine wohl am besten mit Verquellung zu bezeichnende

---

1) Er that dies sogar noch in Mikrotomschnitten, also nach Durchtränkung mit mannigfachen Chemikalien. Vergl.: Mangin, Bull. d. l. soc. d. France 1894, Bd. XLI, p. 42.

Modification. Ueberall in der Zelle treten Vacuolen auf (Fig. 5 Taf. IV), die Randvacuolen wachsen heran (Fig. 6 Taf. IV), die zwischen den Hyphenresten gelegenen verkleinern sich und verschwinden zuletzt. So werden die Hyphen mehr und mehr nach der Mitte zusammengedrängt und bilden schliesslich zusammen mit den celluloseartigen Umwandlungsproducten[1]) und Ausscheidungen des Zellplasmas den zusammenhängenden Klumpen. So ist das Gelbviolet der Chlorzinkjodreaction in der That ein Gemisch des Gelbs der Hyphen und des Violetts der entstehenden Cellulose, während die fäden- und stäbchenartigen Gebilde, die von den Vacuolen zusammengepressten, vielfach zerbrochenen Reste der Hyphenwände sind. Auch die Schichtung des Klumpens erklärt sich dadurch, dass immer neue excrementirte Pilzreste angedrückt werden, während die innere Masse schon mehr erstarrt ist. Der von einem dichteren Inneren abgesetzte äussere Rand zeigt eine in 2 Abschnitten erfolgte Klumpenbildung an. So ist der Klumpen jedenfalls aufzufassen, nicht wie man früher wollte, als ausschliessliches Product der Pflanze, nicht als Organ des Pilzes, wie jetzt allgemein angenommen wird, sondern als ein Gebilde, hervorgegangen aus der innigen Verschmelzung beider Symbionten. — Zu diesem allgemeinen Verlauf der Klumpenbildung können noch mancherlei Abweichungen hinzukommen, da die Hyphen in allen Modificationen dieser Zellen in die Klumpenbildung eintreten. Es können die Hyphen ihre Auflösung beginnen sowohl, wenn sie kaum dem „Meristemstadium" entwachsen, sich eben weiter zu verzweigen beginnen, sowohl weiter verzweigt, als wenn sie die ganze Zelle ausfüllen, als gewöhnliche und als Eiweisshyphen. Weiter können aber entweder alle Hyphen zugleich, simultan, in die Klumpenbildung eintreten, oder in einer grösseren oder kleineren localisirten Stelle. — Nach meinen Untersuchungen ist es völlig ausgeschlossen, dass bei *Neottia* oder anderen Orchideen ein terminaler Sack je in die Klumpenbildung aufgeht, wie ihn Wahrlich (86) angiebt, Frank (87) für möglich hält, Mac Dougal (99a) noch jüngst nicht leugnet.

Doch ist in der That die Verwechselung eines entstehenden Klumpens, wenn wenige Hyphen simultan degeneriren, ein bei anderen Orchideen häufiger, bei *Neottia* seltener Fall, mit einem Körner-erfüllten Sack nicht allzu schwer, zumal wenn aus der

1) Alles Nähere im Abschnitt: Cellulosebildung.

Nachbarzelle eine dickwandige Hyphe hinführt (Fig. 8 Taf. IV). Denn lassen sich schon die lebenden feinen Hyphen schwer im Plasma unterscheiden, so noch viel weniger die collabirten, während auf Mikrotomschnitten auch hier die feinen Fasern der degenerirenden Hyphen zu erkennen sind. Als dicke Wand des Sackes wurde vielleicht von Wahrlich und Janse jene dunkele Schicht des Randes eines eben entstehenden Klumpens angesehen (Fig. 6 Taf. IV), wo die Hyphen noch voll Inhalt und dicht durchsetzt sind mit dem Plasma der Wirthszelle. Durch keine Beobachtung vermag ich mir aber die Angabe Mac Dougals (99a) zu erklären, dass die Hyphenklumpen von wiederholter Verzweigung und chemotropischer Anziehung der Spitzen nach einem Centrum in der Nähe des Nucleus herstammen, da doch bis zuletzt die Hyphen die Zelle in regellosem Verlauf durchkreuzen. Erst die todten Pilzreste werden von den, an dem Pilzreste-freien wandständigen Plasma ansetzenden und gewaltig heranwachsenden Vacuolen in die Mitte zusammengeführt. — Die kaum dem Jugendzustand entwachsenen Hyphen, die also nur einen Theil der Zelle erfüllen, werden bei *Neottia* nur sehr selten, wenn nämlich die Wurzel ihr Wachsthum ganz oder fast ganz eingestellt hat, sogleich und dann immer simultan zur Klumpenbildung verwendet. So entsteht dann natürlich ein sehr kleiner Klumpen, in dem die Bakterien-ähnlichen hypertrophirten Pilzkerne besonders schön hervorzutreten pflegen (Fig. 8 Taf. IV). Meist beginnt aber erst die Klumpenbildung, wenn die Hyphen die ganze Zelle erfüllen; allerdings dann fast stets alsbald. Diese Zellen liegen nur wenig oberhalb des Pilzmeristems. Hier ist die Klumpenbildung, zumal wenn sie gleichzeitig alle Hyphen umfasst, besonders instructiv. Die bis dahin im Plasma relativ scharf sichtbaren Hyphen fangen an, undeutliche Conturen zu bekommen; dann treten überall Vacuolen auf, in deren Wänden die in Collabirung begriffenen Hyphen laufen (Fig. 19 Taf. V). Bei *Neottia* sieht man dann, noch ehe die Hyphen und das Plasma zur eigentlichen Klumpenbildung zusammentreten, fast nur noch verschwommene, nebelartige Massen (Fig. 5 Taf. IV). Desto schöner kann man bei anderen Orchideen, z. B. *Listera* oder *Orchis* (Fig. 20 Taf. V) [etwa *maculata*] mit ihren stärkeren und dadurch länger sichtbaren Hyphen sehen, wie die Hyphen mehr und mehr zusammengerückt werden; schliesslich umgiebt ein aus den Randvacuolen entstandener Saftraum den Klumpen, der aber noch in

sich nach der Erstarrung Vacuolen behalten kann (Fig. 7 Taf. IV) [*Cephalanthera*]. Deutlich hebt sich dann oft der noch viel plasmatische Substanz[1]) enthaltende Rand des neu entstandenen Klumpens von seiner Mitte ab (Fig. 6 Taf. IV).

Nicht minder häufig tritt aber in solchen, die ganze Zelle erfüllenden Hyphen nur ein Theil in die Klumpenbildung ein, während der übrige, sei es, wie gewöhnlich, noch völlig am Leben, sei es erst die Anfänge der Collabirung zeigt (Fig. 9 Taf. IV, Fig. 15, 18, 19, 20 Taf. VI). Es sieht aus, als wenn die Zelle nicht mit einem Male die ganze Portion des Pilzes bewältigen könne. So tritt auch nie in Zellen mit Eiweisshyphen, denen ja grössere Lebenskraft zugewiesen wurde, simultane Klumpenbildung ein.

Der einmal gebildete Klumpen, ein durchaus todtes Gebilde, wird niemals weiter in der Pflanze verändert. Selbst bei längerem Hungern der Pflanze zeigt er, nach Drude (73), wenn keine Spur von Stärke mehr erhalten, dennoch keinerlei Veränderungen. Gerade bei *Neottia* ist mit absoluter Sicherheit festzustellen, dass der Klumpen genau so bis zur Verwesung der Wurzel bleibt, wie er anfangs war, da die Klumpen im Allgemeinen gleich gross sind. Die sehr wechselnde Grösse der Klumpen anderer Orchideen kann leichter zu Trugschlüssen führen. — Diese für *Neottia* geschilderte Klumpenbildung ist für alle anderen Orchideen entsprechend, von gewissen bemerkenswerthen Modificationen abgesehen. Bisweilen stehen nämlich die Klumpen durch bis 20 schnurgerade Zellwanddurchsetzende Fäden miteinander in Verbindung (Fig. 7 Taf. IV), sodass der Klumpen wie in ihnen suspendirt ist. Diese Fäden zeigen kein eigentliches Lumen, sondern erscheinen mehr oder weniger homogen, und gehen sowohl mit starker Verbreiterung in den Klumpen selber über, wie sie auch mit deutlicher Verbreiterung der Zellwand ansitzen. Janse (96) nennt dieses Organ „höchst merkwürdig“, und das musste es auch sein, so lange seine Entwickelungsgeschichte unbekannt war, die z. B. bei *Cephalanthera* und *Listera* genau verfolgt werden konnte. Bis zur Vacuolenbildung ist der Verlauf genau wie bei *Neottia*. Die Randvacuolen wachsen heran und fliessen zu einem Saftraum zusammen; aber jetzt bleiben zwischen ihnen Stränge stehen, in denen noch anfangs

1) So färbt sich z. B. der Rand im Flemming-Dreifarbengemisch mit Orange *G*, während die fertige Mitte sich mit Gentianav. tingirt.

deutlich die Hyphen zu erkennen sind, die einst die Zelle inficirt hatten, resp. neue Zellen inficirten[1]). Sie waren stärker, als dass die im Plasma wirkenden Kräfte sie hätten zerreissen können. Dennoch collabiren auch sie und werden umhüllt von jener Cellulose-artigen Masse. — Aus diesem für alle Mycorrhizen der Orchideen so einheitlichen Bilde würde nur das Verhalten einer einzigen, der von Janse (96) beschriebenen[2]) *Lecanorchis javanica* herausfallen: eine einzellige innere Schicht aus sehr grossen Zellen lässt nur durch einen kurzen Hyphenstrang den Zusammenhang mit den (nicht Klumpen-bildenden) Hyphen der Nachbarzellen erkennen. Sie zeigen einen starkkörnigen Inhalt, der zuerst durch ganz kleine Körnchen Stärke hervorgerufen wird und die ganze Zelle erfüllt; er färbt sich mit Jod gelb, sein Ursprung ist ganz unbekannt, rührt aber nicht von „Sporangiolen" her; es treten auch Vacuolen auf. — Nichts scheint dem zu widersprechen, dass der Ursprung der Erscheinung in dünnwandigen, die ganze Zelle reich durchsetzenden Hyphen zu suchen ist, die vielleicht in dem von Janse beschriebenen Stadium bereits der völligen Degeneration und Collabirung anheimgefallen sind. Selbst die Vacuolenbildung tritt auf, und auch die Hyphen würden sich, wie bei *Neottia*, mit Jod schön gelb färben. Es könnte vielleicht auch die eigentliche Klumpenbildung bei dieser Orchidee einmal unterbleiben, wenn auch ein Analogieschluss selbst diese vermuthen lässt.

Wenn bei *Neottia* der Pilz in einer Zelle nicht sofort die Modification, wie sie für die „Pilzwirthzelle" charakterisirt, annimmt, sondern sich nach dem „Meristemzustand" weiter dünnwandig verzweigt, geht er einem ganz bestimmten Entwickelungsgang unfehlbar entgegen: abzusterben, seines Inhalts beraubt zu werden, dann in Umhüllung in einem Klumpen ausgeschieden zu werden — ein Entwickelungsgang, nicht minder scharf abgegrenzt, wie der der „Pilzwirthzellen", der als „Verdauungszelle" bezeichnet werden soll.

Die Vertheilung der Pilzwirth- und Verdauungszellen.

Dem scharfen Unterschied in der Ausbildung der Pilzwirth- und Verdauungszellen entsprechen die festen Normen, nach denen sie zu einander in der Wurzel gelagert sind. Die Zellen der

1) Sie lassen sich auch oft noch weit in den Klumpen hinein verfolgen.
2) Abbildung: Taf. XIII.

mittleren der drei pilzbewohnten Rindenschichten sind Pilzwirthzellen, die der äusseren und inneren Schicht Verdauungszellen (Fig. 21 Taf. V). Jeder Querschnitt durch eine ältere Wurzel von *Neottia* lässt deutlich die durchscheinenden Klumpen der äusseren und inneren Zellen und in den mittleren das dunkele hyphendurchsetzte Plasma erkennen. Bei der Literaturzusammenstellung ergab sich, dass allein derjenige Forscher, der zum ersten Mal die eigenthümlichen Gebilde in der Wurzel von *Neottia* beschrieb[1]), Schleiden, das mikroskopische Bild richtig auseinander setzte, ohne jedoch die Natur der Fäden als Hyphen zu erkennen. Dagegen ist dieser Unterschied sämmtlichen späteren Untersuchern, als wären sie durch ihre Kenntniss von der Pilznatur voreingenommen, völlig entgangen.

Hält man sich nun das Gesammtbild des *Mycorrhiza*-Pilzes vor Augen — in der Mitte die Pilzwirthzellen, zu beiden Seiten die Verdauungszellen —, liegt der Gedanke nahe, es möchten die Pilzwirthzellen den fortwachsenden Stamm des Pilzes vorstellen, der in die Zelle selbst die feinen Haustorienhyphen, in die Nachbarzellen nach innen und aussen jene dünnwandigen sich reich verzweigenden Hyphen entsendet, die später zum Klumpen degeneriren. Aber ebensowenig, wie in den „Meristem"-zellen ein Unterschied zwischen den späteren Pilzwirth- und Verdauungszellen gefunden werden konnte, sind auch oft schon im Pilzmeristem zwei oder drei Zellen der äusseren Schicht inficirt zu einer Zeit, wo die entsprechenden mittleren noch nicht inficirt waren, sodass der Pilz in der Curvenreihe der späteren Verdauungszellen weiter gewachsen sein musste. — Es kommt aber auch hier und da vor, dass eine oder die andere typische Verdauungszelle in der Schicht der Pilzwirthzellen liegt, ebenso wie eine Pilzwirthzelle in den „Verdauungsschichten", sodass sie von jeder Verbindung mit den übrigen Pilzwirthzellen abgeschnitten war, ohne auch jetzt auch nur Anfänge

1) Schleiden, Grundzüge der wissenschaftlichen Botanik, 1849: Jede Zelle der äussersten jener 3 Lagen enthält eine längliche unregelmässige Masse eines halb festen gelblichen Stoffes (coagulirtes Protoplasma?), dieselbe fast ganz ausfüllend. Jede Zelle der inneren Lage ebenfalls, doch mischen sich darin einzelne Fasern [Anm.: Schl., lag augenscheinlich eine jüngere Wurzel vor], die Zellen der mittleren Lage endlich enthalten einen sie fast ganz ausfüllenden Ballen einer etwas mehr bräunlichen Masse, der aus wenig formloser Masse [Anm.: Zellkern?], dagegen fast ganz aus ineinander gewundenen Fasern besteht, die denen, in der inneren Zellschicht vorkommenden sehr ähnlich sind.

der Klumpenbildung zu zeigen. Aus alledem scheint zu folgen, dass der Pilz völlig indifferent in die Zelle wächst, und erst dort in Reaction auf gewisse Reize sich so oder so differenzirt. — Diese regelmässige Anordnung ist durchaus auf die Seitenwurzeln beschränkt; weder im Rhizom noch im Stengel konnte entsprechend der unregelmässigen Infection irgend eine Ordnung in der Vertheilung gefunden werden. Doch schien es, als überwiegen im Rhizom im Gegensatz zu den Wurzeln die Pilzwirthzellen, die ebenso wie die Verdauungszellen auch gruppenweise zusammenliegen können. In einigen Fällen konnte auch in altem Rhizom, ebenso wie nie im Stengel, überhaupt nicht die Klumpen der Verdauungszellen gefunden werden. Es kam dann auch oft nicht zur eigentlichen Differenzirung der Pilzwirthzellen, sondern dem Pilzmeristem ähnlich durchzogen nur meist wenige Hyphen die Zelle.

Diese Anordnung in der Wurzel von *Neottia* — zwei Schichten Zellen mit Klumpen und in deren Mitte e i n e klumpenlose Schicht — erfordert aber, im Vergleich zu anderen Mycorrhizen, ein besonderes Interesse. Für viele andere Orchideen konnte festgestellt werden, von Janse (96) für *Myrmechis* und *Lecanorchis*, von Mac Dougal (99a) für *Goodyera* und *Cypripedium*, von Vaughan Jennings (99) für *Corallorrhiza*, von mir für *Orchis*, *Listera* und andere Erdorchideen, dass die typische Klumpenbildung auf die inneren Rindenschichten beschränkt bleibt, während in den äusseren Schichten meist nur unveränderte Hyphen oder auch rudimentäre Klumpen auftreten. Weiter zeigte aber Janse (96) ganz allgemein, dass die von ihm beschriebenen Organe der *Mycorrhiza*-bildenden Pilze: Hyphen, Vesikel und Sporangiolen, nach einander, entsprechend tiefer in der Wurzel, gebildet werden, ohne jedoch an bestimmte Zellreihen gebunden zu sein. So konnte er vier Zonen unterscheiden: die erste, die nur von den, in die tieferen Schichten dringenden Fäden durchzogen wird; die zweite, in der der Pilz sich verzweigt und jene Vesikel[1]) bildet; die dritte enthält meist etwas feinere Hyphen, die schliesslich die Sporangiolen bilden, während die vierte immer frei von Pilz ist. Fasst man mit Janse Sporangiolen und Klumpen als gleichwerthige Organe auf, so passen auch die Orchideen in dieses Schema. So scheint es, als wäre die Entfernung von der Oberfläche bestimmend für das Auftreten der verschiedenen Bildungen, und man könnte sich auch wohl vorstellen,

1) Dickwandige als Cysten anzusehende terminale Blasen.

wie der Pilz, je tiefer und tiefer er in die Pflanze eindringt, er sich reichlich entwickelt, hypertrophirt und degenerirt.

Um nun das exceptionelle Verhalten des *Neottia*-Pilzes in seiner ganzen Bedeutung würdigen zu können, ist es nöthig, ihm den Entwickelungsgang des Pilzes einer anderen Orchidee an die Seite zu stellen. — Der folgende Entwickelungsgang des Pilzes von *Orchis maculata* stimmt principiell mit dem aller einheimischen, chlorophyllgrünen Erdorchideen überein. Dennoch ist es nicht angängig, ohne Weiteres über Einzelheiten von einer Species selbst auf eine nahverwandte zu schliessen [1]). Bei allen diesen Orchideen enthalten oft lange, sehr schön entwickelte Wurzeln, auch im Alter, keine Spur vom Pilz, während in anderen Wurzeln nur einzelne Stellen bewohnt sind.

In den inficirten Wurzeln von *Orchis* wird die zweischichtige Epidermis von spärlichen Hyphen durchzogen, die sich meist reichlich in den Wurzelhaaren verzweigen und durch sie oder auch durch die gewöhnlichen Epidermiszellen mit nicht allzuhäufigen Verbindungen in das Substrat hinaustreten. Erst in der dritten Zellreihe verzweigt sich der Pilz reichlicher. Sie und die vierte bestehen aus sehr langen Zellen, in deren Längsrichtung die Hyphen hauptsächlich verlaufen (Fig. 22 Taf. V). Sowohl in diesen Zellen, wie in allen übrigen, ist das Lumen der Hyphen fast gleich, während sich die, die Zelle inficirenden Hyphen oft durch die Stärke der Wände auszeichnen (Fig. 22 Taf. V). In diesen beiden Reihen langgestreckter Zellen kommt es nur selten zur Klumpenbildung, die dann auch in alten Zellen rudimentär bleibt, d. h. es wird nur ein kleiner Klumpen gebildet, und eine ganze Reihe von Hyphen zeigen keine Absterbeerscheinungen. Fast immer bilden dagegen bei *Listera ovata* diese Zellen solche rudimentäre Klumpen aus. Erst in der nächsten Schicht, und dann oft in vielen Zellreihen, kommt es zur typischen Klumpenbildung. Die dazu verwendeten Hyphen haben die gleiche beträchtliche Lumenstärke und Wanddicke, wie die der äusseren Schichten, nur füllen sie sich vor der Degeneration oft mit jener eiweissartigen stark Farben-anziehenden Substanz. Da sie durch ihre Wanddicke nicht einfach zusammenzuknittern sind, durchziehen sie oft ohne Quellungserscheinung, bandartig zusammengedrückt (Fig. 20 Taf. V), im Querschnitt

1) Aber auch Standortsverhältnisse scheinen bei derselben Species gewisse Modificationen hervorbringen zu können.

Lemniscatenartig, den fertigen Klumpen. Bei *Listera* dagegen scheinen die Hyphen dieser Zellen etwas dünnwandiger zu sein, als die der äusseren Zellen. — Bei *Orchis* können die Hyphen bei der Klumpenbildung sowohl von der Wand losreissen, und so einen unverbundenen Klumpen bilden, wie der zusammenpressenden Kraft der Vacuolen Widerstand leisten, und so die spinnenartig verbundenen Klumpen entstehen. Bei den verschiedenen Orchideen überwiegt oft der eine oder andere Modus. — Der Klumpen kann simultan oder in zwei Abschnitten gebildet werden, und scheint dafür die Masse des Pilzes in der Zelle zur Zeit der Degeneration von Bedeutung zu sein. — Häufig vermag auch der Pilz Zellen mit fertigem Klumpen zum zweiten Mal zu inficiren, besonders solche mit kleinem simultan entstandenen Klumpen. Zumal wird auch häufig, Janse (96), das Umwachsen der mit Fortsetzen versehenen Klumpen beschrieben. Bei solcher wiederholten Infection scheint der Pilz nie zum zweiten Mal zur Klumpenbildung verwendet zu werden. — Während so im Allgemeinen Hyphen- und Klumpenführende Zellen vorhanden sind, kann es vorkommen — es konnte dies für *Orchis* nicht mit Sicherheit festgestellt werden, wohl aber für *Listera ovata*, *Platanthera bifolia* und *Cypripedium spectabile* — dass in einer Wurzel plötzlich nur Klumpen vorkommen, resp. auch alle Hyphen in den äusseren Zellen mit mehr oder weniger Klumpenbildung abgestorben sind, so dass in der ganzen Wurzel keine lebenden Hyphen zu finden sind. Andererseits hatte sich bei *Cephalanthera* in seltneren Fällen in den Zellreihen, in denen vollständige Klumpenbildung einzutreten pflegt, der Pilz ohne die geringsten Degenerationserscheinungen so mächtig entwickelt, dass dadurch die Zelle zum Absterben gebracht wurde, während der Pilz augenscheinlich noch weiter lebte. Es erinnert dies sehr daran, dass die Bakterien in den Bakteroidenknöllchen der Leguminosen manchmal nicht, wie es die Regel ist, degeneriren, sondern sich ausserordentlich vermehren und schliesslich die Zelle tödten. Wie Beyerink[1]) dort von einer Bakterienüberwucherung spricht, könnte hier von einer Pilzüberwucherung gesprochen werden. —

Stellen wir das Verhalten des Pilzes von *Neottia* und *Orchis* in kurzen Zügen gegenüber: Hier werden alle Wurzeln inficirt, dort nur einzelne; hier sind dann ganz bestimmte Zellen inficirt, dort können ziemlich alle Zellen inficirt werden, aber auch der

[1]) Die Bakterien der Papilionacaeenknöllchen. 1888. Botan. Zeitung, p. 724.

Pilz kann nur einzelne Theile der Wurzel befallen. Hier sind die Zellen, welche nicht zur Degeneration bestimmt sind, immer ohne Klumpen, dort meist die Hyphen-führenden Zellen, die aber auch oft rudimentäre Klumpen enthalten können; hier sterben in diesen Zellen die Hyphen nie ab, dort öfters; hier sind sie auf eine bestimmte zwischen den Zellen mit todten Klumpen liegende Zellenreihe beschränkt, ohne Verbindung nach aussen, dort liegen sie ganz allgemein nach aussen und entsenden einzelne Fortsätze in das Substrat; hier ist eine Differenzirung in „Ring-" und „Haustorienhyphen" eingetreten, dort nicht, oder es unterscheiden sich kaum die inficirenden Hyphen von ihren Verzweigungen; hier treten eigenthümliche Veränderungen der Ringhyphen auf, die dort ganz fehlen. — Die Zellen mit Klumpen sind hier in ihrer Lage genau fixirt, dort liegen sie meist in den inneren Schichten der Wurzel, es können aber in allen pilzbewohnten Zellen Klumpen auftreten; hier sind die degenirenden Hyphen besonders dünnwandig und reich verzweigt, dort unterscheiden sie sich garnicht oder kaum von den Hyphen der äusseren Zellen. So entsteht hier schliesslich immer ein wandgetrennter vollständiger Klumpen, während dort die Hyphen oft von der Wand nicht losreissen; hier werden solche Zellen nie superinficirt, dort kann das eintreten. — Ohne den Vergleich noch weiter führen zu wollen, folgt ohne Weiteres, dass der Pilz von *Neottia* alle die Differenzirungen und Anpassungen in höherer Ausbildung besitzt, welche auch die Pilze der verglichenen Orchideen in der Anlage besitzen. Diese Orchideen haben also auch in unserem Sinne „Pilzwirth- und Verdauungszellen", aber sie gehen ineinander über, wie es vielleicht die minimalen Schwankungen im Gleichgewicht der Kräfte der Symbionten mit sich bringen. Bei *Neottia* ist dies Gleichgewicht stabil, beide Symbionten sind in strenge, gesetzliche Beziehung getreten. Jedoch nur in den Seitenwurzeln, im Rhizom und Stengel herrscht eine weit grössere Willkür, hier ist eine viel grössere Aehnlichkeit mit dem Verhalten der anderen Orchideenpilze.

Wollte man die Mycorrhizen der Orchideen in eine systematische Ordnung bringen, dürfte man also nicht mit Janse sie nach solchen mit Fäden verbundenen und solchen mit fädenlosen Klumpen unterscheiden, sondern den Eintheilungsgrund müsste ganz allgemein der Grad der Anpassung oder Differenzirung des Pilzes abgeben. So würde man voraussichtlich dazu geführt werden, die Pilze der Halosaprophyten, als in ihrer Entwickelung weitergegangen, denen der andern Orchideen gegenüber zu stellen.

Auf die physiologisch-biologischen Momente, die den Nutzen dieser um soviel weiter gegangenen Differenzirungen begreiflich machen, und zugleich zeigen, dass auch *Neottia* nicht Janse's (96) Theorie der Schichten widerspricht, sofern diese nur physiologisch aufgefasst, kann erst eingegangen werden, wenn die Kenntniss von den Veränderungen in der Zelle des höheren Symbionten uns weitere Anhaltspunkte zum Verständniss der Symbiose geliefert haben wird.

Ein anderer Parasit.

In allen Altersstufen der Wurzeln[1]) traten, öfters bis zur Spitze herauf, schwarze unregelmässige Flecken auf, die scharf von der gewöhnlichen gelbbraunen Grundfarbe abstachen. Sie rührten von den verfärbten Wänden von Zellen her, die von einem Pilzmycel befallen waren, das sich erheblich von dem *Mycorrhiza*-bildenden unterschied.

Die 8—10 μ, also erheblich breiter wie die stärksten *Mycorrhiza*-Fäden, starken Hyfen mit dunkelbrauner Membran (Fig. 23 Taf. V) besitzen ziemlich zahlreiche Querwände und enthalten in jedem Fach zahlreiche grössere Zellkerne. Bei ihrem Eindringen erfüllen sie oft eine Epidermiszelle vollständig mit ihrem Geflecht, gehen aber dann meist direct bis zur Pilzschicht. Dort verzweigen sie sich stärker in meist gegenständigen Verzweigungen, sowohl in den Pilzwirth-, wie in den Verdauungszellen, ohne jedoch nach Art der Ringhyphen zu winden. Kann der Pilz auch noch in tiefere Rindenzellen eindringen, hat er doch weitaus seine Hauptentwickelung in der vom *Mycorrhiza*-Pilz bewohnten Schicht. Irgend welche Fructificationsorgane wurden nicht gefunden. — Kurz nach seinem Eindringen verfärben sich die Zellwand und der Klumpen in dunklem Braun und verlieren zu gleicher Zeit ihre Cellulose-Reaktion. Der fertige Klumpen wird oft durch und durch vom Pilz durchwachsen und mehr und mehr aufgelöst, während ein in Bildung begriffener Klumpen bei seiner Anwesenheit anscheinend nicht fertig gestellt wird. — Aus dem ganzen Verhalten scheint ohne Weiteres zu folgen, dass die Hauptnahrung des Pilzes in der That in dem Klumpen besteht, und er wohl nur um sie zu er-

1) Die Exemplare wurden gesammelt, Juni 1899, Godesberg a. Rh., Waldschlucht hinter dem Friesdorfer Eiskeller.

reichen in die Wurzel eindringt. So werden die Stoffe, die für die Pflanze und den *Mycorrhiza*-Pilz, für die regelmässigen Symbionten anscheinend unbrauchbar sind, sofort von einem dritten Organismus ausgenutzt, ohne dass dabei augenscheinlich den anderen ein erheblicher Schaden zugefügt wird. — Aehnliche Verhältnisse sind als „Parasymbiosen" beschrieben worden[1]).

Capitel II.

Neottia.

Mollberg (84) fällt es zuerst auf, dass nicht nur die Wurzelzellen einer Orchidee durch die Anwesenheit eines Pilzes keinen Schaden erleiden, sondern sogar im Gegentheil der Zellkern besonders gross wird; er erwähnt auch, dass die Pilzhyphen von Cellulose umgeben werden (ebenso Frank, 91). Weniger noch geben die nächsten Specialarbeiten, nicht viel mehr Janse (96), der im Zusammenhang die Veränderungen der Wirthspflanze durch gutartige Endophyten beschreibt, nachdem die Veränderungen, die durch parasitäre Pilze hervorgerufen werden, P. Magnus, Wakker, zusammenhängend Tubeuf (95) behandelt hatten. Alle übrigen Angaben wie die von Treub (87), Thomas (93), Groom (95b), Cavara (96), Chodat und Lendner (98), Dangeard (97, 98), Mac Dougal (99a, b), Vaughan Jennings (99) beziehen sich ausschliesslich auf den Kern, dass er grösser wird, sich stärker färbt, ev. sich fragmentirt.

Der Gesammtbau.

Um über die Veränderungen klar zu werden, die die Wurzel von *Neottia* durch die Ausbildung der *Mycorrhiza* erfährt, sind zwei Gesichtspunkte scharf zu trennen. Die ausnahmslose Infection setzt einerseits ohne Weiteres einen hohen Grad der Anpassung im Bau der Wurzel an die Symbiose voraus, andererseits vermag die Anwesenheit des Pilzes selber gewisse Modificationen hervorzubringen, die als directe, jedesmal wieder wirkende Einflüsse jenen erblich erworbenen gegenübergestellt werden müssen. — Zu letzteren gehört sicherlich das Fehlen der Wurzelhaare, ein so allgemeiner Charakter der Wurzel, der andernfalls bei jungen, nicht inficirten

1) z. B. W. Zopf, Ber. d. deutsch. bot. Ges. 1897, Bd. XV, p. 50.

Wurzeln in rudimentären Spuren vorhanden sein müsste. Dennoch besteht wohl bei *Neottia* ein nachweisbarer Zusammenhang mit der *Mycorrhiza*-Bildung nicht. Zwar meint Johow (89), der das Fehlen der Wurzelhaare als fast durchgehende Erscheinung der Halosaprophyten nachweist, und andere, dass die aus der Pflanze austretenden Pilzhyphen die Function der Wurzelhaare, also zumal die Zuleitung der Nährstoffe übernommen, und diese so entbehrlich gemacht hätten. Die theils äusserst spärlichen, theils überhaupt mangelnden Verbindungen der Pilzhyphen nach aussen machen jedoch die Auffassung für *Neottia* anatomisch unmöglich. — Vielleicht ist eher darauf hinzuweisen, dass auch bei vielen anderen Pflanzen die Wurzelhaarbildung bei Kulturen im feuchten Medium stark zurückgeht, während das auffallend schnelle Welken der *Neottia*-Wurzeln auf eine starke Durchlässigkeit der Epidermis schliessen lässt. — In gleicher Weise scheinen nur mit allgemeinen Standortsverhältnissen und nicht in engem Zusammenhang mit der Symbiose auch andere ungewöhnliche anatomische Verhältnisse der Wurzel zu stehen, wie die geringe aber immerhin 4 bis 5 Zelllagen starke Wurzelhaubenbildung, der Bau des Centralcylinders und ähnliches, für die auf Johow's (85, 89) vergleichende anatomische Untersuchungen der Saprophyten verwiesen sein mag.

Ein directer Zusammenhang mit der *Mycorrhiza*-Bildung liess sich nur in der Zellgrösse der typisch pilzbewohnten Zellen feststellen. Schon äusserlich macht sich ein, wenn auch sehr geringer Unterschied zwischen den nicht inficirten und inficirten Wurzeln gleichen Alters bemerkbar. Während dort der Längsschnitt die Form einer Parabel besitzt, findet bei der inficirten Wurzel plötzlich kurz vor der Spitze eine Richtungsänderung der Curve nach innen statt, sodass die Wände in einem viel stumpferen Winkel zusammenneigen. Dies wird bewirkt durch ein fast unmittelbares Grösserwerden der vom Pilz befallenen Zellschichten, jedoch ohne dass je Zelltheilungen eintreten. — So scheint es, als ob in der That durch die Anwesenheit des Pilzes erst jene merkliche Zellvergrösserung hervorgebracht würde. Dennoch liegt auch für *Neottia* der Sachverhalt nicht so einfach, ebenso wie auch Janse (96) bei *Lecanorchis* und *Diosporum* nicht anzugeben vermochte, ob die bedeutend grösseren Zellen der pilzbefallenen Schicht ausschliesslich durch den unmittelbaren Einfluss des Pilzes entstehen. — Auch in den ältesten Zonen einer nicht inficirten Wurzel von *Neottia*, die allerdings dann schon hier und da spär-

liche Pilzfäden zu enthalten pflegt, unterscheiden sich die drei sonst pilzbewohnten Schichten, zumal aber die inneren, durch ihre Form und Grösse von den übrigen Rindenzellen, wenn auch nicht so scharf wie die pilzbefallenen gleichaltrigen Schichten. — So besitzt die Wurzel von *Neottia* in ihrer späteren Differenzirung Zellen, die von den übrigen unterschieden, wie vorbereitet sind, den Pilz aufzunehmen. Der Pilz aber vergrössert sie durch seine Anwesenheit und vermag hauptsächlich ihre um vieles verfrühte Ausbildung herbeizuführen. — Die vom Pilz befallenen Zellen des Rhizoms oder Stengels besitzen solche Differenzirungen nicht.

Die Anwesenheit des Pilzes in der Wurzel macht sich auch auf nicht selbst befallene Zellen bemerkbar. Denn in der wachsenden Wurzel zeigen sich auch die jüngsten, noch nicht inficirten Zellen der pilzbefallenen Schicht erheblich vergrössert. Ebenso vergrössern sich dann auch allmählich und unbedeutend die Zellen der nicht pilzbefallenen Schicht, deren Zellkerne auch bis auf eine gewisse Entfernung immer schwächer sich beeinflusst zeigen. — Aehnliches wurde zuerst von Cavara (96) für *Vanilla planifolia*, dann von Dangeard (97) für *Ophrys* beschrieben. — Am deutlichsten aber unterscheiden sich vielleicht bei *Listera* alle Kerne des inneren Rindenparenchyms einer inficirten Wurzel, von denen einer nicht inficirten: Jede Zelle der inficirten Wurzel besitzt die bedeutende Vergrösserung und veränderte Lage des Zellkernes der pilzbefallenen Zellen[1]). — Weiter fehlen bei Anwesenheit des Pilzes in der Wurzel die Raphidenzellen bei *Neottia* vollständig, die allerdings auch in nicht inficirten nur schwach entwickelt sind, während bei anderen Orchideen ihre Ausbildung erheblich herabgesetzt wird. Hier werden auch die Salepzellen in inficirten Wurzeln nicht ausgebildet[2]).

Schwieriger zu entscheiden ist, ob das begrenzte Wachsthum der Wurzel — sie wird höchstens 6 cm lang, — unmittelbar durch die Anwesenheit des Endophyten verursacht wird. Auch viele andere typische Mycorrhizen stellen oft nach kurzer Zeit ihr

1) Siehe p. 44.

2) Auf diese Wirkungen des Pilzes in die Ferne, die solche rudimentäre Hypertrophien und Modificationen hervorbringen und sich hier noch ziemlich deutlich als Ernährungsstörungen zu erkennen geben, ist meiner Meinung nach grosser Werth zu legen, weil sie wohl den Schlüssel zum Verständniss überhaupt der durch Parasiten hervorgerufenen Hypertrophien darbieten.

Wachsthum ein, sodass bei ausdauernden Pflanzen die Wurzel eigenthümlich intermittirend weiter wachsen kann (z. B. von Janse 96, Tubeuf 96, Nobbe und Hiltner 99 für *Podocarpus* beschrieben). Hiermit in engem Zusammenhang stehen auch die häufigen Verzweigungen der Mycorrhizen in korallinischer und büscheliger Form, wie sie Johow (89) vielfach beschrieb und von der Mac Dougal (99a) bei *Aplectrum* feststellen konnte, dass allerdings nur die Anwesenheit des Pilzes diese Art der Verzweigung bedingt. — Bei *Neottia* wird der büschelige vogelnestartige Typus des Wurzelsystems ausschliesslich durch eine reichliche Wurzelbildung am Rhizom hervorgebracht. —

Das Protoplasma.

Bald, nachdem die Zellen das Wurzelspitzenmeristem verlassen haben, bildet sich, ihrer Grössenzunahme folgend, der Saftraum, während der Protoplasmaschlauch entsprechend dünner wird. Erst mit dem Eindringen des Pilzes fängt das Plasma an, sich energisch zu vermehren, indem es zugleich ein trüberes Aussehen annimmt, wie es ähnlich auch in den ersten Stadien des Eindringens rein parasitärer Pilze beobachtet werden kann. Es fällt dies hier damit zusammen, dass der Pilz, sowie er in das Plasma eingedrungen, fortdauernd von ihm umgeben bleibt. — So verhält er sich ganz anders, wie die Fremdkörper in der Zelle im Allgemeinen. Denn nach Pfeffer's Untersuchungen[1]) stossen die von fester Zellhaut umhüllten Protoplasten, Dermatoplasten, genau wie die zellhautlosen Plasmodien, sowohl durch die umhüllende Hautschicht, wie durch die Vacuolenwände über kurz oder lang feste fremde Bestandtheile aus: „ohne dass durchaus eine Eingangspforte für andere, zumal auch nicht flüssige Stoffe geschaffen würde". Doch weist schon Pfeffer auf das abweichende Verhalten gewisser, in Infusorien symbiontisch lebender Algen hin, die ebensowenig wie die differenzirten Organe der Zelle ausgeschieden werden, und setzt hierzu eine eigenthümliche Wechselwirkung voraus. Augenscheinlich steht nun in unserm Falle die specifische Reizwirkung im engsten Zusammenhang mit dem Leben. Denn, sowie der Pilz abstirbt, hat die lebenskräftige Zelle nichts Eiligeres zu thun, als

1) Pfeffer: Ueber Aufnahme und Ausgabe ungelöster Körper, 1890. Math. phys. Cl. d. kgl. Sächs. Gesellsch. d. Wissensch.

die todten Pilzreste aus sich heraus zu befördern. Dass aber die Zelle gezwungen wird, sich bei diesem Excrementirungsprocess zugleich eines bedeutenden Theils des an den Hyphen anhaftenden Plasmas zu entledigen, lässt direct an eine mechanisch gewordene Verkettung beider Symbionten denken. — Die Vorgänge, die sich in dem, die Zelle dicht erfüllenden Plasma der Verdauungszellen bei dem Absterben der Hyphen abspielen, sind bei der Klumpenbildung im Zusammenhang geschildert worden. — Durch sie wird der durch und durch mit Pilzfäden durchzogene Zellleib wieder zurückverwandelt in den völlig Pilzreste-freien lebenden Protoplasmaschlauch, mit seinem grossen Saftraum. In ihm liegt aber jetzt der völlig todte Klumpen, der in sich die verdauten Reste des Pilzes birgt. — Bei anderen Orchideen kann aber der Klumpen sogar völlig aus dem Saftraum herausbefördert werden. Oefters zeigen sich nämlich, zumal bei den mit geraden, langen, die Zellwand durchsetzenden Ausläufern versehenen Klumpen: „sowohl sie, wie die einzelnen Fäden," alle oder nur zum Theil. „umkleidet von einer dünnen Schicht von Protoplasma, und ausserdem sind äusserst feine Protoplasmastränge zu sehen, welche in netzförmigen Anastomosen," jedoch meist unverzweigt, „von dem wandständigen Protoplasmaschlauch nach der, die Pilzelemente umkleidenden Plasmaschicht ausgespannt, die theils in innerlicher Strömung, theils in zitternder Bewegung und Lageveränderung begriffen sind" (Frank 92, Lehrbuch p. 265). Die Anfangsstadien zu dieser Entwickelung sind hier anfänglich genau entsprechend der Klumpenbildung bei *Neottia*. Die Randvacuolen vereinigen sich zu einem grossen Saftraum, aber sowohl die dem Klumpen anliegende Plasmaschicht bleibt erhalten, wie aus den Vacuolenwänden einzelne Verbindungsfasern.

Die den Klumpen umgebende Schicht scheint sich in nichts von dem Primordialschlauch zu unterscheiden, ist zumal in gleicher Weise plasmolysirbar [1]). Der Protoplast hat so die Form einer Hohlkugel angenommen, in deren Centrum, also vollständig ausserhalb des Protoplasten, sich der ausgeschiedene Klumpen befindet. Zu solcher völligen Herausbeförderung scheinen auch bei anderen Orchideen nur relativ lebenskräftige Zellen befähigt zu sein, die

1) So läge hier wieder ein Fall vor, wo eine neue Hautschicht, nicht im Anschluss an eine schon vorhandene, sondern frei an einer beliebigen Stelle des Plasmas gebildet wird.

sich auch nicht allzu vieler Pilzhyphen zu entledigen hatten, da bei einer grösseren Masse von Hyphen wohl zuviel Plasma bei der Klumpenbildung verbraucht wird, als dass noch eine neue, innere Hautschicht gebildet werden könnte. Sicherlich in diesem, aber auch in dem Falle, wo der Klumpen nur im Saftraum suspendirt liegt, handelt es sich um einen Excretionsvorgang, der durchaus dem der nicht in starre Zellhaut eingeschlossenen Amöben entspricht. — Es ist interessant genug, dass, da durch einen complicirten Vorgang es ermöglicht wurde, dass verdauliche feste Substanz in den Dermatoplasten eindringt, sich dann sogleich, kaum modificirt, die Ausscheidungsvorgänge freier Plasmodien einstellen. —

Das anfangs trübe Plasma der Pilzwirthzellen zeigt im Allgemeinen wenig Veränderung. Gegen Ende der Vegetation wird es nur oft wenig und weniger, und nach dem Absterben der feineren Haustorien-Hyphen im Alter sind oft nur noch der Primordialschlauch und die Ringhyphen erhalten. So werden zwar auch hier die todten Hyphen aus dem lebenden Plasma ausgeschaltet, doch atrophirt wohl in solchen Fällen mehr das umgebende Plasma, als dass die Hyphen eigentlich excrementirt würden. — An solche allmähliche Atrophirung des Plasmas ist wohl auch zu denken, wenn man in anderen Orchideen, jedoch nie bei *Neottia*, in alten noch lebenden Zellen auch lebende Hyphen den Saftraum durchsetzen sieht, ohne dass eine, auch nur feine umhüllende Plasmaschicht zu entdecken wäre.

Der Primordialschlauch aller Zellen, sowohl der Pilzwirth- wie Verdauungszellen bleibt bei *Neottia* und, so weit ich sehen konnte, auch bei anderen Orchideen, Zufälligkeiten und jene Pilzüberwucherung[1]) natürlich ausgenommen, bis zum Absterben der Wurzel überhaupt am Leben[2]). Während er bei allen Verdauungszellen auch noch bis zum Schluss relativ gut plasmolysirbar bleibt, scheint er diese Fähigkeit schon ziemlich früh in den Pilzzellen zu verlieren. Es scheint, als nähmen ihm in der That die, das Plasma nach allen Seiten durchsetzenden Pilzhyphen seinen zur Plasmolysirbarkeit nothwendigen festen Zusammenhang, und als läge hier ein Fall vor, wo selbst die Plasmolyse versagt, das Leben des Plasmas festzu-

1) Siehe p. 23 unten.

2) So fällt auch die ganze Vorstellung Dangeard's, 97: von einer „Plasmophagie", die er im Gegensatz zu seiner „Nucleophagie" resp. der Merotomie, als Mittel zur Untersuchung plasmaloser Kerne empfahl, in sich zusammen.

stellen[1]). — In einigen Fällen wurden im Plasma während der Klumpenbildung eigenthümlich fädig-lockenförmige Gebilde gesehen, ohne dass über ihre Entstehung oder Bedeutung eine Vorstellung gewonnen werden konnte[2]).

Cellulosebildung.

Bisher wurde die Masse des fertigen Klumpens, den wir aus den Resten des Pilzes und den Producten des Plasmas entstehen sahen, als „celluloseartige" Substanz bezeichnet. Auch die im folgenden nach hergebrachtem Verfahren gefundenen Cellulose-, Pectin-, Ligninbestandtheile mögen nur als Gattungsbegriffe gelten, die auch in dieser Beziehung die Klumpenbildung klar stellen, zumal die Mitwirkung des Plasma der Wirthspflanze weiter sichern sollen. — Die gelblich-graue Färbung des Klumpen mit Chlor-Zinkjod legte die Anwesenheit von Cellulose nahe. Zu ihrem Nachweis wurden die auf dem Objectträger aufgeklebten Microtomschnitte, die auch für solche Reactionen stets scharfe Bilder liefern, 24 Stunden mit Eau de javelle behandelt, um Plasma und Pectinstoffe hinwegzulösen. Nach dieser Zeit zeigten sich nur noch Spuren der Zellkerne. Bei Zusatz von Chlor-Zinkjod färben sich jetzt die Klumpen deutlich rein violett, wenn auch die Zellmembranen sich noch erheblich intensiver färben. Waren in Zellen mit localer Klumpenbildung die umgebenden Hyphen mit dem Plasma nicht weggelöst, was sehr oft geschah, so zeigten sie eine rein gelbe Farbe, ebenso wie die noch nicht zur Klumpenbildung zusammengedrängten desorganisirten Hyphen der simultanen Klumpenbildung. Gleiche rein gelbe Farbe hatten alle Hyphen der Pilzwirthzellen, auch die Rindenhyphen mit ihren gequollenen Wänden, höchstens dass an ganz dicken Stellen ein violetter Ton durchschimmerte. — Hatte schon an nicht vorher behandelten Präparaten der Klumpen sich in Safranin orange gefärbt und so nach Mangin[3]) seinen Gehalt an Pectinstoffen zu erkennen gegeben, so zeigte sich diese Farbenreaction noch viel schärfer nach Entfernen der Cellulose

1) Andererseits konnten in den Zellen, in denen die Kerne verschwinden, Unterschiede in der Plasmolysirbarkeit gegenüber den kernhaltigen Zellen nicht festgestellt werden.

2) Vergleiche: Grenant, Sur le protoplasme supérieur. Journ. de l'anatomie 1899.

3) Journ. d. Botan. 1892.

mit Kupfer-Oxyd-Ammoniak — am schönsten, wenn die Schnitte nur etwa 2 bis 3 Minuten in Safranin (Alk. löslich) gelassen wurden. Es färben sich dann die Hyphen hellrosenroth, sowohl die der Pilzwirthzellen, als die lebenden und auch die völlig desorganisirten der Verdauungszellen, die Zellmembran rein gelb-orange, während der Klumpen auf rein gelb-orange Grund noch hier und da deutlich die zarten Streifchen der Pilzreste[1]) durchschimmern lässt. — Phloroglucinreaction auf Lignin ergab keine Verholzung. — Ebenso wie aus diesem substanziellen Verhalten lässt sich auch bei den mit Fortsätzen versehenen fertigen Klumpen anatomisch ihre Herkunft aus dem Zellplasma fesstellen: Absatzlos verlaufen die Fortsätze mit breiter Basis in die Zellwand, und zeigen so deutlich, dass in der That die einbettende Masse aus dem Plasma der Wirthszelle hervorgegangen ist.

So tritt hier bei Anwesenheit des Pilzes ein Vorgang ein, der als normale Erscheinung nur bei wenigen Pflanzen auftritt — eine Cellulose-Bildung innerhalb der Zelle von der Wand getrennt und unabhängig von der Hautschicht[2]).

Bei vielen Klumpen, die vom Plasma umgeben bleiben, wird auch noch nachträglich, z. B. bei *Cephalanthera* (so auch Mollberg, 84), der fertige Klumpen von einer Pilzreste-losen Membranschicht eingeschlossen. Hieraus, wie aus den Celluloseschеiden vieler Pilze[3]), zumal vieler Ustilagineen innerhalb der Wirthszellen, deren Entstehung sicherlich nicht durch Ausbuchtung der Membran, wie es Vuillemin[4]) will, sondern ganz ähnlich, wie bei den Orchideenklumpen aus dem Plasma erfolgt, lässt sich ihre biologische Bedeutung in der schützenden Abgrenzung des Plasmas gegen den Fremdkörper erkennen.

---

1) Die ursprünglich in den Pilzmembranen enthaltene Callose — nachgewiesen mit Corallin und Methylenblau — ist später nicht mehr zu erkennen.

2) Es gehören hier als normale Erscheinungen wohl nur her: die Cellulosebalken in *Caulerpa* und in den Embryosäcken verschiedener Pflanzen, die Bildungen in der Samenschale von *Cuphea*, wie die Umscheidung der Rosanow'schen Drusen, die letztere vielleicht überhaupt gewisse Aehnlichkeit mit der Klumpenbildung hat; doch lassen die widersprechenden Angaben keinen Vergleich zu. Literat. bei Wittlin, Botan. Centralbl. Bd. 64, 1896.

3) Vergl. De Bary: Pilze p. 422.

4) l. c. Les filaments des Ustilaginées dissolvent le ciment pectique qui unit les cellules, mais sont impuissants, à perforer la couche interne de la membrane imprignée de cellulose. Sous l'influence irritante cette couche s'étend, se laisse refouler dans la cavité et engaine le parasite pendant tout son trajet intracellulaire.

So sind auch sicherlich der grösste Theil der von Janse (96) beschriebenen Cellulose-Hüllen und -Kappen, z. B. Fig. 5 Taf. XIII, Fig. 5 Taf. XIV, die ihm wohl als Pilztheile erscheinen, analoge plasmagebürtige Producte der Nährpflanze, wie ich auch die Schleimfäden in den Bakterienknöllchen der Leguminosen als eine ganz analoge Schutzbildung des Plasmas ansehe. – Zu diesen Umscheidungen scheinen in allen Fällen nur erstarkte kräftige Zellen befähigt zu sein, und es erscheint wichtig, hervorzuheben, dass diese Scheiden nur zu Stande kommen können, wenn die Cellulose-lösende Kraft des Pilzes der Cellulose-bildenden der Zelle die Waage hält. Umgekehrt sind ähnliche sehr merkwürdige oft gefingerte Gebilde, wie sie Brefeld[1]) beschreibt, wenn bei Ustilagineen die zu sehr erstarkte Zelle durch rasche und massenhafte Cellulosebildung das Eindringen des Pilzes hindert, in zahlreichen Fällen für Mycorrhizen von Janse beschrieben worden, z. B. Diosporum Fig. 3, 4 Taf. XII. Und wie ich gute Gründe habe, auch die knopfförmigen Gebilde, die bei den „Schleimfäden" der Leguminosen sehr häufig auftreten und oft von einer starken Membran umgeben sind, für analoge Gebilde zu halten, so scheinen auch die knopfförmigen und stäbchenartigen Verdickungen, die manchmal auf der Innenseite der Epidermis der pilzbefallenen Wurzel von *Neottia* in das Zelllumen hineinragen (Fig. 47a u. b, Taf. VI), die Stelle anzuzeigen, wo ein Pilzfaden vergeblich von Aussen einzudringen versuchte. Könnte man hierin auch einen guten Schutz gegen eine etwa zu starke Infection sehen, bleibt doch die Möglichkeit, dass es sich um eine von dem Eindringen des Pilzes unabhängige Ausscheidung überflüssigen Baumaterials handelt, ein Gesichtspunkt, der sicherlich auch erheblich bei der Klumpenbildung mitspricht und sich ebenso bei gewissen, von Janse beschriebenen Bildungen nicht ausser Acht lassen lässt.

Die Stärke.

Für die endotropische *Mycorrhiza* der Orchideen wird angegeben, dass die pilzbewohnten Zellen keine Stärke enthielten. Dies ist für *Neottia* nicht ganz zutreffend. Bei Neuinfection einer Zelle werden im Gegentheil fast stets zahlreiche kleine Stärkekörner gebildet, ebenso wie es häufig auch für rein parasitäre Pilze be-

1) Die Brandpilze, Leipzig 83—95.

schrieben wurde; Tubeuf (95). Die Stärke verschwindet aber sehr bald und tritt nie mehr während des Lebens der Hyphen in den Zellen auf. Ist aber in den Verdauungszellen der Pilz im Klumpen excrementirt, oder ist in den Pilzwirthzellen ein Mal zufällig der Pilz abgestorben, treten oft sofort wieder zahlreiche Stärkekörner auf. Diese Stärkekörner sind dann meist vielfach zusammengesetzt, während die gewöhnliche Stärke der Rindenzellen einfach oder sehr wenig zusammengesetzt ist.

Der Kern.

Es ist eigenthümlich, dass noch nie der Versuch gemacht wurde, die Entwickelungsgeschichte der schon im frischen Präparat durch ihre gelbe Färbung, in gefärbten Präparaten durch ihre starke Farbenanziehung so auffallenden hypertrophirten Kerne von *Neottia* zu entwerfen. — Denn auch mit Einschluss der Thieranatomie giebt es wohl kein geeigneteres Object, um über die Entstehung solcher Kernhypertrophien eine Vorstellung zu gewinnen: Ein und dasselbe Präparat, ein Wurzellängsschnitt, kann unter Umständen alle Stadien vom jungen Kern der Meristemzellen bis zum Höhepunkt der Hypertrophie, ja sogar seine regressiven Erscheinungen enthalten. Noch dazu liegen die Zellen ihrem Alter nach hintereinander, sodass kaum Missdeutungen durch falsche Gruppirung der Zustände vorkommen können, wie sie in solchen pathologischen Zuständen, wie in den Carcinomen und Tumoren mit ihren regellos durcheinander liegenden Zellen so häufig sind. Wenn auch so eine wachsende Wurzel alle in Betracht kommenden Stadien enthalten kann, zeigen Schnitte durch andere Wurzeln einzelne Erscheinungen in nur sehr abgeschwächtem Maasse, resp. alle Kerne sind mehr oder weniger in den Ruhezustand der Endentwickelung getreten. Da das Alter der Wurzeln dabei nicht in Betracht zu kommen scheint, handelt es sich wohl um eine Art Inactivirung der Zellen. Als deren Ursache kommen dann vielleicht innere Schwankungen im Stoffwechsel, auch wohl äussere Ernährungsbedingungen und Temperaturschwankungen in Betracht, doch scheint eine nicht zu unterschätzende Rolle die Zeit zu spielen, welche zwischen der Fixirung und der Entfernung vom natürlichen Standort verstreicht, wie auch das langsamere Eindringen der Fixirungsflüssigkeit. In der folgenden Darstellung werden natürlich die Wurzeln zu Grunde gelegt, die die Erscheinungen am typischsten zu zeigen scheinen.

Die jungen, ruhenden Kerne der Wurzelspitze von *Neottia* zeigen in ihrem Chromatingerüst (Fig. 1 Taf. VI) das gewöhnliche Bild sehr feiner Maschen, deren Knotenpunkte sich zu grösseren Körnchen verdicken. Sie enthalten ein oder zwei nicht allzugrosse Nucleolen, die typisch rund, oder wenn in Einzahl vorhanden, auch von linsenförmiger Gestalt (Fig. 2, Taf. VI) sind. Ausserdem liegen noch ziemlich grosse mit Safranin sich intensiv färbende Körner von rundlicher oder verhältnissmässig eckiger Gestalt der Kernmembran an, ohne jedoch Vorsprünge nach Aussen zu bilden. Sie sind nie von einem Hof umgeben und besitzen keine feinen Fortsätze in das Chromatingerüst. So sind sie wohl unorganisirte Proteïnkrystalloide, die so häufig in Pflanzenzellkernen auftreten [1]). Auch ihr biologisches Verhalten macht sie als Reservestoff kenntlich. Denn in einer ruhenden oder sich kaum theilenden Wurzelspitze sind sie grösser und zahlreicher als in einer lebhaft wachsenden Wurzel. Bei der Theilung verschwinden sie noch vor der eigentlichen Prophase. — In den älteren Zellen einer nicht inficirten Wurzel wird der Kern in den inneren Rindenzellen um ein erhebliches grösser, während er in den äusseren Zellreihen etwa seine ursprüngliche Grösse beibehält. Irgend welche ungewöhnliche Veränderungen, in Structur und Form, konnten nicht beobachtet werden, er liegt stets dem Primordialschlauch an (Fig. 27, Taf. VI). — Anders in der inficirten Wurzel: Oft wenn die Kerne kaum das Wurzelspitzenmeristem verlassen haben, beginnt sich in ihnen, in den weiter oben vom Pilz bewohnten Zellschichten, noch bevor sich die Zellen vergrössern, eine eigenthümliche Veränderung bemerkbar zu machen. Ohne dass sich vorerst der Kern erheblich vergrössert, treten durch das ganze Gerüstwerk immer grössere und grössere Chromatinkörnchen auf (Fig. 3 Taf. VI), während andere verschwinden, sodass das Netzwerk weitmaschiger wird und erheblich weniger Ecken mit Chromatinkörnchen vorhanden sind. Die Körner wachsen heran und sind jetzt mit ziemlich starken Fäden untereinander verbunden (Fig. 4 Taf. VI), die ihnen ein sternförmiges Aussehen verleihen. Schliesslich aber werden auch diese Fäden noch theilweise eingezogen, und das Gerüst besteht eigentlich nur noch aus ziemlich abgerundeten nicht allzu zahlreichen grossen, mit wenig Fäden verbundenen Chromatin-

1) Vergl. Zimmermann: Zellkern 1896, ferner Strumpf: Zur Histologie der Kiefer, Abh Acad. Krakau 1899.

ballen, die einen ihrem eigenen Durchmesser ungefähr gleichbreiten Zwischenraum zwischen sich frei lassen (Fig. 5, 7, Taf. VI). So haben die Kerne ein von der gewöhnlichen Structur gänzlich abweichendes, merkwürdiges Aussehen bekommen. Da auch im lebenden Kern die Kugeln mit absoluter Deutlichkeit hervortraten (Fig. 6 Taf. VI), ist jeder Gedanke an ein etwaiges Kunstproduct ausgeschlossen. Mit starker Ueberfärbung mit Gentianaviolett gelingt es auch, die Zwischensubstanz (Kernsaft), soweit erkennbar, homogen zu färben. Während dieser Ballung hat der Umfang des Kernes beträchtlich zugenommen. Der Nucleolus wird oft, zumal im Beginn des Processes, kleiner, kann aber auch ebenso oft der Grössenzunahme des Kernes folgen. Waren wohl ausgebildete Eiweisskrystalloide vorhanden, so können sie anfangs erhalten bleiben, sich sogar vergrössern, sind aber beim Höhepunkt der Ansammlung jedenfalls verschwunden. Die Kernmembran wird sehr oft recht undeutlich (Fig. 5 Taf. VI), zumal dann, wenn, wie oft, eine sich ziemlich dunkel tingirende Plasmahülle den Kern umgiebt, kann aber auch dann sehr scharf hervortreten (Fig. 4 Taf. VI). — Die ganze Erscheinung der „Chromatinansammlung“ oder „Ballungsstadiums“ ist von allen vielleicht die regelmässigste, denn ganz fehlte sie in keiner der untersuchten Wurzeln. — Der Kern liegt jetzt in den Zellen dicht unter der „meristematischen Pilzzone“ oder auch in ihren eben inficirten Zellen. Seine anfänglich wandständige Lage hat er jetzt fast stets mit einer mittleren in der Zelle vertauscht (Fig. 8d Taf. VI). Ziemlich rasch vollzieht sich nun eine durchgreifende Aenderung der Structur. Die Grundsubstanz des Kerns färbt sich sehr dunkel, während überall kleine Chromatinkörnchen auftreten, und die grossen Ballen kleiner werden. Doch vermag ich nicht zu sagen, ob direct eine Spaltung solcher Kugeln in kleinere stattfindet, wenn auch manche Bilder solche Deutung zuzulassen scheinen, oder die Kugeln in toto kleiner, und neue gebildet werden. Die fast gleiche Färbung der Grundsubstanz mit den Chromatinkügelchen erschwert eine Untersuchung sehr. — Stets parallel diesen Veränderungen verliert der Kern seine bisher durchaus regelmässige runde Gestalt; er wird länglich (Fig. 8a—d Taf. VI), schnürt sich dann oft in der Mitte ein, sodass Bretzel- oder Lemniscaten-ähnliche Formen entstehen. Oft sind die Hälften gleich, aber auch mehr oder weniger ungleich, doch wird die Einschnürung wohl nie bis zur Fragmentirung getrieben. — So scharf charakterisirt diese Form sowohl in ihrem Aussehen, wie durch den Ort ihres Auftretens in den meristematischen Pilzzonen resp. in

Zellen, welche eben sich zu differenziren beginnen, ist, fehlt gerade sie häufiger selbst in sonst stark activirten Wurzeln, was auf eine nur kurze Dauer der Erscheinung schliessen lässt. Jedenfalls bildet sie das Band zu den in den differenzirten Zellen auftretenden Erscheinungen. So können auch schon in diesen Zellen runde Kerne liegen, mit Structuren, wie sie sonst erst weiter herauf in der Wurzel aufzutreten pflegen.

Von nun an ist zwischen dem Entwickelungsgang der Kerne der Verdauungszellen und der Pilzwirthzellen zu unterscheiden. — In den Verdauungszellen, während die Hyphen die ganze Zelle durch ihr rasches Wachsthum anfüllen, entwickeln sich aus den nur eingeschnürten Formen der Kerne weiter breite Verzweigungen und Fortsätze (Fig. 9 Taf. VI, Fig. 3 Taf. IV), die dem anfangs wohl stets in der Mitte der Zelle liegenden, von Hyphen rings umschlossenen Zellkern ein amöbenartiges Aussehen verleihen (Fig. 10a -e Taf. VI). Ob diese amöboiden Bewegungen sich langsam oder schnell vollziehen, wurde nicht untersucht, da ich erst zu einer Zeit auf die Erscheinungen aufmerksam wurde, als mir frisches Material nicht mehr zur Verfügung stand. Doch muss aus der ziemlich engbegrenzten Zone ihres Auftretens, ferner aus Bildern, in denen man noch das Einziehen und Ausstrecken der Fortsätze zu erkennen glaubt (z. B. Fig. 14, 15 Taf. VI), auf einen relativ raschen Verlauf geschlossen werden. — In den seltensten Fällen kann die Bewegung bis zur Fragmentirung getrieben werden. — Die Structur der Kerne hat inzwischen ein ganz verändertes Aussehen bekommen. Unregelmässige dichte und dünne durcheinander liegende Chromatinkörnchen lassen seine Structur grosskörnig flockig erscheinen, während ein fädiges Netzwerk so gut wie garnicht hervortritt (Fig. 12 Taf. VI). Dazwischen liegen erheblich grössere runde Chromatinkugeln, die jedoch von den grossen Nucleolen — ich konnte im Maximum bis acht zählen — deutlich unterscheidbar sind. Höchstwahrscheinlich entstehen die Nucleolen hier durch Neubildung, nicht durch Theilung aus vorhandenen. — Während die Hyphen sich aufzulösen beginnen, werden jene Fortsätze der Kerne immer feiner und feiner, sodass der Kern auch bei starker Vergrösserung noch wie fein gezähnelt erscheint (Fig. 11 Taf. VI). Auch treten Fälle auf, wo ein völlig runder Kern nach allen Richtungen ganz feine Fortsätze entsendet.

Jetzt oder schon früher kann der Kern, immer in amöbenartigen Formen, sich aus dem Hyphenknäuel herausbegeben, er

plattet sich dann oft an der Zellwand ab, während an der entgegengesetzten, in das Zellinnere hineinragenden Seite weiter amöboide Verzweigungen auftreten (Fig. 13a, b, 35, Taf. VI). Ist, was oft geschieht, der Zellkern in eine Ecke gerückt, ist das Bild besonders eigenthümlich (Fig. 14 Taf. VI).

Es ist nun äusserst interessant, dass der Kern durch seine Lage und Form in engster Beziehung zur Klumpenbildung steht. — Der Klumpen beginnt sich ausnahmslos nur dort zu bilden, wo sich der Kern befindet, während der Kern an der Seite, wo sich der Klumpen bildet, und oft nur dort, in Berührung mit dem sich umwandelnden Plasma, seine differenzirte Kernhaut völlig verliert und in feinsten Fortsätzen in den sich bildenden Klumpen hineinragt (Fig. 14, 16, 17, 19, 20, 21, Taf. VI). So beeinflusst auch die Lage des Zellkerns stark die Ausbildung simultaner oder localisirter Klumpenbildung. Zu gleicher Zeit schliesst die celluloseartige Masse die zusammengedrängten Hyphen meist nur dann ein, wenn der Kern sich aus den Hyphen heraus an die Zellwand begeben hatte. — An einer localisirten Stelle, und zwar dann meist in der Mitte der Zelle wird der Klumpen nur dann gebildet, wenn entweder der Kern noch mit Fortsätzen bis in die Mitte hineinragt — der Klumpen ist dann von 3 Seiten von den noch unverdauten Hyphen und an der vierten vom Kern begrenzt — oder auch noch ganz von Hyphen eingeschlossen ist (Fig. 9, Taf. IV, Fig. 14—21, Taf. VI). Liegt aber der Kern z. B. in einer längeren Zelle etwas zur Seite, beginnt auch unmittelbar ihm anliegend, also nicht mehr in der Mitte der Zelle die Klumpenbildung (Fig. 18, Taf. VI). — Liegt der Kern noch in der Mitte der Hyphen, während die Klumpenbildung beginnt, dann ist besonders schön der Zusammenhang zu sehen, der zwischen der Klumpenbildung und dem Zellkern besteht. Allerdings ist der Fall selten, dass sich der Kern wie ein Ring um den sich bildenden Klumpen legt (Fig. 21, Taf. VI), aber sehr häufig tritt die scharfe Abgrenzung der Membran nach Aussen, eine völlig unscharfe Begrenzung des Kernes nach der Seite des Klumpens hervor[1]) (Fig. 16, 17, Taf. VI). Häufig bildet sich auch um den in der Mitte liegenden Kern halbkreisförmig der Klumpen

1) Doch muss man sich hüten, einen schräg an der Kernwand ablaufenden Schnitt, der bei einem so grossen Kerne häufig auftritt, etwa mit einer unscharfen Abgrenzung zu verwechseln

aus. — Ist dann an solcher local begrenzten Stelle, die meist etwa die Hälfte der ganzen Pilzmasse umfasst, der Klumpen vollendet, zieht sich der Kern zurück, bekommt überall differenzirte Membran und begiebt sich in amöboiden Bewegungen nach Aussen (Fig. 15, 19, Taf. VI). Hatte der sich bildende Klumpen den Kern umfasst, entsteht an dieser Stelle eine mehr oder weniger tief in den Klumpen hineinragende Ausbuchtung, die aber auch zugleich ermöglicht, genau die Stelle zu bestimmen, an der der Kern vorher gelegen haben muss (Fig. 16 Taf. VI). — Dangeard (97), der bei *Ophrys* Kerne in solchen Höhlungen liegen sah, schliesst aus dem sich nicht färbenden Zwischenraum, dass der Kern den Klumpen auflöse, resp. verdaue[1]). Die geschilderte Entstehung dieser Ausbuchtungen zeigt, von allem andern abgesehen, wohl unzweideutig die Unrichtigkeit dieser Auffassung. Der Zwischenraum entsteht nicht durch Auflösung des Klumpens, sondern durch Zurückweichen der Kerne, resp. wenn der seltene Fall eintritt, dass der Kern ganz oder theilweise von dem sich rings bildenden Klumpen eingeschlossen wird, atrophirt der Kern und kann so von einem kleinen Hohlraum umgeben werden. — Der Kern bewegt sich nach aussen mit breiten oder oft sehr feinen Ausläufern. Während dieser Bewegung kann der Kern noch einmal jene fein granulirte Structur in sich dunkel färbender Grundsubstanz annehmen, wie sie für die meristematische Pilzzone charakteristisch war. — Ist der Kern an der Aussenseite angelangt, legt er sich stets, während der den inneren Klumpen umgebende Hyphenring weiter zum Klumpen ausgebildet wird, in gleicher Weise an ihn an, und wieder besitzt er, an der Seite, wo sich die celluloseartige Masse bildet, eine mit feinen Fortsätzen versehene Membran (Fig. 16, 17, Taf. VI). Nach beendeter Klumpenbildung rundet sich der Kern bei *Neottia* meist allseitig ab, und verharrt so bis zum Absterben der Wurzel, der Zellwand angelagert. Doch bleibt er auch öfters, wie es bei einigen anderen Orchideen die Regel ist, bis zuletzt dem Klumpen angelagert, in der Form, in der er zur Zeit der Klumpenbildung lag. — Die Abrundung der Kerne kann in allen Entwickelungsstadien gefunden werden (Fig. 5 Taf. IV). — Ein abgerundeter Kern befindet sich während der Klumpenbildung aber wohl nur in einem vorüber-

1) Dangeard zieht daraus im Zusammenhang mit den Arbeiten Hofer's, Balbiani's, Aqua's die weitgehendsten theoretischen Folgerungen.

gehenden Inactivitätszustand, und ist befähigt, unter geeigneten Bedingungen wieder in Activität zu treten. — Nur sehr selten enthielt der Kern der Verdauungszelle, in einer nicht nach Aussen communicirenden Höhlung, Körnchen, die die Osmiumsäure der Fixirungsflüssigkeit stark reducirten[1]), während in einem anderen Fall, allerdings in einer auch von dem anderen parasitären Pilz befallenen Zelle eine traubige, sich mit Safranin roth färbende Masse sichtbar wurde (Fig. 25 Taf. VI). Eine andere chromatolytische Absterbeerscheinung verrieth sich durch grosse runde, durch das ganze Gerüstwerk gehende, homogene Tropfen (Fig. 26 Taf. VI). — Nur ziemlich selten ist in Zellen mit fertigem Klumpen der Zellkern überhaupt verschwunden. Es kann nämlich — jedoch nur äusserst selten bei *Neottia*, dagegen häufiger bei anderen Orchideen — die sich bildende Cellulose den Kern von allen Seiten umgeben, ehe er sich nach Aussen zurückgezogen hätte, dann atrophirt er und scheint schliesslich in die Cellulosebildung mit aufzugehen. Meist aber verschwindet er wohl so, dass er während der Klumpenbildung von der Seite des Klumpens her, dem er mit verwaschener Membran anliegt, kleiner und kleiner wird, etwa Fig. 17 Taf. VI. Der typische Fall ist jedoch sicherlich, dass die Verdauungszellen schliesslich einen abgerundeten Kern enthalten.

In den sich bildenden Pilzwirthzellen rundet sich der Kern fast stets ab oder zeigt durch sehr geringe Verzweigungen nur schwache Bewegung an; er ist schon jetzt durchschnittlich kleiner als die Kerne gleichaltriger Verdauungszellen. Seine Structur ist anfangs ungefähr wie die der Kerne der Verdauungszellen grosskörnig-flockig, ohne jedoch wie jene unter Umständen eine feinkörnige Chromatinstructur in dunkler Grundsubstanz anzunehmen. Späterhin bekommt er ein ziemlich schwach färbbares feines Chromatingerüst, in dem grosse und unregelmässige Chromatinballen und Körner eingelagert sind (Fig. 22 Taf. VI) und dessen Membran sich sehr scharf abhebt. Bald hat er seine runde Form verloren, die mehr eckig und faltig wird, ohne jedoch an amöbenartige Bewegungen zu erinnern. Oft ist er auch von Hyphen mehr oder weniger eingeschnürt (Fig. 23, 24, Taf. VI), doch wird er niemals von ihnen durchwachsen[2]). Im Alter wird

1) Häufiger wurde das Gleiche bei *Listera* beobachtet (Fig. 42 Taf. VI).

2) Ein Durchwachsen der Kerne wird nur von Schlicht (89) für die *Mycorrhiza* von Paris beschrieben, doch konnte nie ähnliches von mir bei Paris gefunden werden, während auch seine Abbildung ganz andere Deutung zuzulassen scheint.

er kleiner und Chromatin-ärmer, seine Umrisse undeutlich, bis er zuletzt ganz verschwinden kann, jedoch meist ohne vorher chromatolytische Todeserscheinungen zu zeigen. — Durch Wirkungen, die die Verdauungszellen zur Zeit starker Stoffumlagerungen auf alle ihre Nachbarzellen ausüben, treten auch in den Pilzwirthzellen gewisse Complicationen auf. Wie die Kerne der übrigen Rindenzellen können dann auch diese Kerne schwach auch später die für die Verdauungszellen typische Structur, auch wohl sehr geringe Bewegungen zeigen. Dennoch ist selbst dann, wenn man mit den Erscheinungen vertraut, stets allein vom Kern aus zu entscheiden, ob eine Pilzwirthzelle oder Verdauungszelle vorliegt.

Um bei diesen Kernveränderungen die mehr individuellen und mehr allgemeinen Erscheinungen trennen zu können, sollen auch die Veränderungen in den Kernen von *Orchis maculata* und *Listera ovata* geschildert werden. — Der völlig ruhende Kern des Wurzelmeristems von *Orchis maculata* (Fig. 28 Taf. VI) besitzt eine sehr fein gekörnelte Grundsubstanz, während scharf differenzirte Chromatinkörnchen oder -Fetzen ausschliesslich der sehr deutlichen Kernmembran in grösseren Zwischenräumen aufgelagert sind. In einer lebhaft wachsenden Wurzel besitzen aber die meisten Kerne an ihrer Oberfläche viele grössere wohlausgebildete Chromatinkörner (Fig. 29 Taf. VI), während das Gerüstwerk sich etwas schwächer färbt. Sie sind die ersten Anlagen zu einer Theilung, da die Chromosomen an der Oberfläche gebildet werden (Fig. 30 Taf. VI), ohne dass vorher ein eigentlicher Kernfaden hervorträte. — In allen Stadien haben die Kerne fast stets nur einen Nucleolus. — In der nicht inficirten Wurzel wachsen die Kerne langsam heran (Fig. 37_2 Taf. VI). Ausser den anfänglich nur an der Peripherie liegenden gröberen Chromatinelementen sind später auch im Innern der Kerne zahlreiche mit Fäden verbundene Körnchen sichtbar.

Die Kerne einer inficirten Wurzel besitzen schon, wenn sie kaum das Wurzelmeristem verlassen haben, die Grösse der grössten Kerne einer nicht inficirten Wurzel (Fig. 37_4 Taf. VI). Die Chromatinkörnchen an der Peripherie haben sich sehr bedeutend vergrössert (Fig. 31 Taf. VI), sodass man sie für Chromosomen halten könnte, wenn nicht auch im Innern des Kernes einzelne Chromatinbrocken sichtbar wären. Kurz unter den neuinficirten Verdauungszellen werden diese Chromatinkörner in der sich dunkel färbenden Grundsubstanz undeutlich, während zu gleicher Zeit der Kern sich einschnürt, oft sich dabei eigenthümlich um sich selbst windet, sodass

wie dreikugelige Formen entstehen können (Fig. 32 Taf. VI). Zu dieser Zeit ist der Kern von einem sich ziemlich intensiv färbenden Plasma umgeben. Häufiger führen diese Einschnürungen zur Fragmentation. In den nunmehr bedeutend vergrösserten Kernen der Verdauungszellen mit einem sehr grossen Nucleolus wird dann die Grundsubstanz bald heller, und dicke, den ganzen Kern durchsetzende Chromatinstränge werden sichtbar, die auch im lebenden Material scharf hervortreten (Fig. 33, 34 Taf. VI). Sie verlaufen häufig in bestimmten Richtungen, sodass in Mikrotomschnitten, wenn sie quer geschnitten sind, oft nur gleich dimensionale Ballen sichtbar sind. Die Richtung der Streifung steht in deutlichem Zusammenhang mit der vorhergegangenen Bewegung der Kerne, d. h. sie verläuft den Auszweigungen parallel (Fig. 35 Taf. VI). Die Bewegung muss ziemlich compact sein, da feine Ausläufer nie gesehen werden. Bei einer localisirten Klumpenbildung liegt auch hier immer der Kern dem Klumpen an, während die innere Begrenzung meist unregelmässiger als die äussere ist (Fig. 33 Taf. VI). Bei der simultanen Klumpenbildung, die immer nur eintritt, wenn relativ wenig Hyphen in der Zelle sind, braucht der Kern, wie es scheint, nicht direct dem Klumpen anzuliegen, ist aber dann durch einen breiten Plasmastreifen mit dem sich bildenden Klumpen verbunden. Die peripherischen, bei *Orchis* fast stets nur Hyphen enthaltenden pilzbewohnten Zellen besitzen einen kleinen unregelmässig geformten Kern (Fig. 22 Taf. V), der in sehr feinem Gerüstwerk grössere Chromatinmassen enthält. — Zum Vergleich der verschiedenen Kernformen sei erwähnt, dass bei *Orchis* die Kerne des Leitparenchyms immer in tiefen Einbuchtungen gefaltet sind (Fig. 36a—c Taf. VI).

Die Kerne des Meristems von *Listera* haben ein gleichmässiges Gerüstwerk mit ein bis zwei Nucleolen. In nicht inficirten Wurzeln wächst der Kern regelmässig heran und liegt typisch im Primordialschlauch der Wand an (Fig. 38 Taf. VI). Die inneren Rindenzellen enthalten erheblich grössere Kerne wie die äusseren Zellen. — In der inficirten Wurzel wächst der Kern sehr schnell in den mittleren, später Klumpen-führenden Zellen heran. — Anscheinend ohne Zwischenstadium wird die Gerüststructur grobkörnig wie in den Verdauungszellen bei *Neottia* (Fig. 40 Taf. VI). Unterhalb der ausgebildete Klumpen führenden Zellen rückt er in die Mitte der Zelle, schnürt sich schon jetzt oder auch erst später ein und wird sehr häufig fragmentirt, sodass die Verdauungszellen sehr oft zwei

sehr grosse Kerne enthalten. Die Bewegung der Kerne geschieht augenscheinlich nur in der ganzen Masse des Kernes, da keine eigentlichen Fortsätze sichtbar sind. Häufig ist nur eine sackförmige Form (Fig. 39 Taf. VI), in der die Spitze entgegen der Bewegungsrichtung liegt, und nicht etwa als Hälfte eines fragmentirten Kernes aufzufassen ist. Wird nur ein kleines Stück vom Kern abgeschnürt, färbt sich dies oft sehr dunkel im Gegensatz zum übrigen Kern. — Nach Fertigstellung des Klumpens liegt der Kern fast stets in der Mitte der Zelle dem Klumpen an, ohne jedoch im Allgemeinen an der Berührungsstelle seine Membran zu verlieren. Sehr charakteristisch für diese Kerne sind ihre zahlreichen Nucleolen. — In manchen Wurzeln häufig, in andern weniger, liegt dem eigentlichen Nucleolus im gleichen Hofe ein sich hellbläulich färbender, meist etwas kleinerer zweiter an (Fig. 40, 41 Taf. VI), von ihm getrennt oder ihm angedrückt; in manchen Kernen treten nur solche Paare auf[1]).

Der Zellkern der äusseren pilzbewohnten Zellen, die ausser Hyphen hier meist rudimentäre Klumpen enthalten, ist kaum grösser, als ein normaler, also unverhältnissmässig kleiner als die Zellkerne der inneren Zellen (Fig. $38_{4, 5}$ Taf. VI), während auch er meist dem rudimentären Klumpen anliegt.

Zur Deutung der Kernveränderungen.

Versteht man unter Chromatin alle sich chromatinartig färbende Substanz, so bestehen die Structurveränderungen des Kerns in einer Lageveränderung und Zunahme des Chromatins. — Normaler Weise ist solche Lageveränderung nur für die indirecte Kerntheilung bekannt, bei der in dem, sich zur Theilung anschickenden Kern das feinvertheilte Chromatin bis zu den dichten, etwa gleich grossen Chromatinmassen der fertigen Chromosomen zusammengeballt wird. — In ganz ähnlicher Weise wird nun auch bei *Neottia*, als erste Kernveränderung im Ballungsstadium, das fein vertheilte Chromatin zu abgesetzten, etwa gleich grossen Massen zusammengeballt, die hier wie dort ziemlich gleichmässig durch den

1) Sie entstehen vielleicht so, wie sie Braem 97: Die geschlechtliche Entwickelung vom *Plumatella fungosa:* Zoologica, herausgeg. von Leucart und Chun, Heft 23 (refrt. Montgommery: Comparativ Cytological studies with espectual regard to the morphologie of the Nucleolus 1898, Journ. of Phys.) angiebt, durch Substanzaustritt aus dem ursprünglichen Nucleolus.

ganzen Kern angeordnet sind. — In dem augenscheinlich dem Ballungsstadium von *Neottia* entsprechenden Zustand in der inficirten Wurzel von *Orchis*, in dem Stadium, das zwischen dem normalen und hypertrophirten Kern liegt, ballt sich ein grosser Theil des Chromatins zu Kugeln zusammen, die der Peripherie des Kernes aufgelagert sind, an derselben Stelle, wo die Chromosomen bei der Theilung gebildet werden. — Es ist nun sehr interessant, dass, bei der einzigen Lageveränderung des Chromatins, die ausser der indirecten Kerntheilung in der botanischen Literatur bisher beschrieben zu sein scheint, die Ballungen in den Kernen der gefütterten Drüsenzellen von *Drosera*, bei ihrer Entdeckung (Huie[1]) als wirkliche Chromosomen beschrieben werden konnten. Doch wurde von Rosenberg[2]) gezeigt, dass die Chromatinballen auch hier nur ähnlich den Chromosomen an der Kernperipherie entstehen, und nicht mit ihnen identisch seien.

Der Hauptunterschied zwischen der Prophase bei *Neottia* und dem Ballungsstadium scheint darin zu bestehen, dass sich das Chromatin, ohne dass vorher kugelige Massen entstehen, zu einem Faden zusammenlagert, der nachher in die relativ langen Chromosomen zerfällt, während bei der Ballung zu keiner Zeit ein Knäuelstadium zu entdecken ist, weder vor dem Auftreten der Kugeln, noch nachher. — Der Hauptunterschied bei *Orchis* besteht darin, dass bei der Ballung ausser den Chromosomen-ähnlichen Kugeln noch andere Chromatinfäden in der Kernhöhle vorhanden sind. — Wenn so auch Ballung und Kerntheilung nicht zu identificiren sind, machen verschiedene Gründe es mir doch wahrscheinlich, dass diese Chromatinansammlungen keine isolirt dastehenden Contractionserscheinungen sind, sondern in der That morphologisch den Anfängen der indirecten Theilung an die Seite zu setzen sind. — Man könnte sich vorstellen, dass in ähnlicher Weise, wie die Substanzvermehrung der Kerne sicherlich zum grossen Theil der auslösende Reiz für die Mechanik der indirecten Kerntheilung ist, auch hier dieser Reiz sich bemerkbar macht, aber, möglicherweise in ganz bestimmter zweckentsprechender Anpassung, ein Theil des complicirten Mechanismus versagt, die Theilung nicht zu Stande

1) Lily H. Huie: 1. Changes in the Cell-organes of *Drosera rotundifolia*, produced by Feeding with Eggalbumen. Quat. Journ. of Micr. Sc. 1897. 2. Further study of Cytological Changes produced in Dr. 1899 ibidem.

2) Rosenberg, O., Physiologisch-cytologische Untersuchungen über *Drosera rotundifolia*. Upsala 1899.

kommt, und hierdurch dann die hypertrophirten und hyperchromatischen Zellkerne entstehen. Spricht für diese Auffassung auch schon das öftere Schwinden der Membran, die Verkleinerung des Nucleolus, und vor allem die Ansammlung stark tingirbaren Plasmas, wie es für die directe Zelltheilung typisch, so besonders das der Ballung folgende Stadium bei *Neottia* und *Orchis*. — Die innere Abstossung, die den Kern auf seine normale Grösse zurückzubringen strebt, scheint auch jetzt noch die Hälften, nunmehr auf directem Wege, auseinander zu treiben. Oft auffallend symmetrische Lemniscaten- und Bretzelformen entstehen, während die theils zusammenhaltenden, theils trennenden Spannungen den Kern sich schraubig winden lassen, und gleichzeitig die sich stark färbende Grundsubstanz, wie das den Kern umgebende Plasma hohen Activitätszustand verrathen[1]). Doch schon die Entstehung der hyperchromatischen Kerne von *Listera* und anderen Orchideen, wie die der Bakteroidenzellen, zeigt, dass keineswegs immer die sich bildende Hyperchromatie über ein sichtbares Stadium solcher unterdrückter Theilung führen muss.

In der Structur der hyperchromatischen Kerne kommen die individuellen Eigenschaften der Kerne sehr scharf zum Ausdruck. Während bei *Neottia* und *Listera* grosse Chromatinkugeln durch den ganzen Kern verstreut sind, tritt bei *Orchis* das Chromatin nur in Strängen auf; ebenso wie bei diesen Pflanzen ist auch für die oft sehr charakteristische Structur der hypertrophirten Kerne anderer Pflanzen gewiss, dass dieselben schon im Normalzustand vorgebildet sind. — Bisher sind von solchen individuellen Chromatinstructuren nur ganz besonders charakteristische Formen, Peters[2]), Rosen[3]), Zacharias[4]) beschrieben worden. Es mag darauf hingewiesen werden, dass die grossen „Pseudonucleolen“ nur die ver-

1) Vielleicht ist so auch die normale Kernveränderung zu verstehen, die Korschelt 1891 (Beiträge zur Morphologie und Physiologie des Zellkerns. Zool. Jahr. A. u. O. IV, 1) bei der Eitheilung von *Dytiscus marginalis* beschreibt. Auch hier sollen solche Ballungen nur in Stadien zwischen der Normalgrösse des Kernes und dem übergrossen Kern der Eizelle auftreten und scheint dann die Richtungskörperbildung der Reifung deutlich auf eine vorher unterdrückte Theilung hinzuweisen.

2) Peters: Untersuchungen über den Zellkern in den Saamen, während ihrer Entwicklung, Ruhe und Keimung 1891. Rost. Inaug.-Diss.

3) Rosen: Beiträge zur Kenntniss der Pflanzenzelle. I. Cohn's Beiträge V, 1882.

4) Zacharias: Ueber das Verhalten des Zellkerns in wachsenden Zellen, Flora 1895, Ergänzungsband.

grösserten peripherischen Körnchen der Jugendform *(Lupinus, Cucumis)* vorstellen, und nicht mit unserem Ballungsstadium zu verwechseln sind. — Vielmehr, wie die individuellen Eigenschaften der Chromatinstructur, sind die der Nucleolen bekannt, aber auch diese treten in dem hypertrophirten Zustand noch schärfer hervor. Man vergleiche nur die 20 oder mehr Nucleolen der hypertrophirten Kerne von *Listera* und den einen grossen von *Orchis*. Auf eine Deutung der Erscheinung der beiden zusammenliegenden sich verschieden färbenden Nucleolen bei *Listera* möchte ich verzichten[1]). Es handelt sich hier wohl um ein anormal oder übermässig producirtes Stoffwechselproduct des Nucleolus. In gleicher Weise möchte das Vorkommen der Osmium-reducirenden Substanzen als anormaler Stoffumsatz anzusehen sein. — Am deutlichsten kommen aber vielleicht die individuellen Eigenschaften der Species in der Bewegungsform der Kerne zum Vorschein. Ganz wie verschiedene Sorten von Amöben verschiedenartige Bewegungen aufweisen, stehen hier den relativ feinen Verzweigungen von *Neottia* die compacteren von *Orchis*, und die sich fast nur in einer Einschnürung äussernden von *Listera* gegenüber.

Morphologisch schwer zu deuten sind die grossen unregelmässigen Massen von Chromatin, die in den Kernen der Pilzwirthzellen ausgeschieden werden. Es handelt sich hier wohl um Absterbeerscheinungen, die vielleicht der „Pyknose" der pathologischen Anatomen entsprechen. — Die biologische Bedeutung der hyperchromatischen Kerne der Verdauungszellen wird durch Vergleich mit den sonst bekannten Hyperchromatien erkennbar. Normaler Weise treten hyperchromatische Kerne bei Pflanzen auf: in keimenden Samen *(Lupinus, Cucumis)*, Geleitzellen *(Cucurbita)*, in Tapetenzellen, nach Rosenbergs[2]) und meinen Beobachtungen bei sehr vielen Pflanzen, in Endospermzellen, in gewissen Excretionszellen, schliesslich in den mit Eiweiss-artigen Stoffen gefütterten Absorptionszellen von *Drosera*; bei Thieren in gewissen Absorptions- und Excretionszellen. — Auch die nicht typisch einer Nahrungsaufnahme oder -Ausgabe nach Aussen angepassten Zellen sind jedenfalls alle solche mit besonders starkem Stoffwechsel. Durch die Tapetenzellen wird die Ernährung der entstehenden Pollen-

1) In der botanischen Literatur scheinen ähnliche Bildungen nur für Gallen von *Phytophus Schlechtendali* auf *Geranium dissectum* v. Molliard 97 beschrieben zu sein.

2) l. c.

körner besorgt. Ebenso ernährt sich der wachsende Embryo durch das Endosperm; für die Geleitzellen wird angenommen, dass sie mit der Production resp. Speicherung des Eiweisses der Siebröhren in Verbindung stehen. — Aber ebenso wie bei den Kernen der *Drosera*-Zellen nur die Verarbeitung bestimmter Stoffe mit Hyperchromatien verbunden ist, so scheinen auch, ganz wie dort, alle normalen Hyperchromatien nur im starken Stoffumsatz speciell eiweissartiger Substanzen[1]) bedingt zu sein. Denn viele typisch Kohlenhydrate (Zucker, Schleim) secernirende Zellen haben im Gegentheil häufig Kerne mit sehr schwach färbbarem Gerüstwerk. Während so wohl sicherlich die hyperchromatischen Kerne der Verdauungszellen der Orchideen, ebenso wie etwa die der Bakteroidenzellen mit derartigem starken Stoffumsatz zusammenhängen, ist es hier, wie in den übrigen Fällen fraglich, ob die Kerne nur quasi passiv ernährt werden, oder die Hyperchromatie wirklich der Ausdruck der für die Production und Verarbeitung dieser stickstoffhaltigen Stoffe nothwendigen Activität des Kernes ist. Für letztere Auffassung spricht, dass hier ganz besondere Anpassungen vorliegen, die den Zellkern hypertrophiren lassen. Sind dann die Kerne in die Verdauungszellen gelangt, erreicht allerdings erst in diesen Zellen mit starkem Stoffwechsel die Hyperchromatie ihren Höhepunkt, während in den Pilzzellen sehr schnell regressive Erscheinungen auftreten. — Dennoch glaube ich nicht, dass in den anormalen Fällen, das sind zumal Sarcome und Carcinome thierischer Gewebe, in pflanzlichen, die Kernveränderungen bei Anwesenheit zumal thierischer Parasiten, für die Kernhypertrophie, wie es Molliard (97) will, ein „Accroissement d'activité du Cytoplasme" als primärer Factor anzunehmen sei, sondern meine, dass dies durch Parasiten oder sonstige Umstände hervorgerufene Störungen im normalen Stoffwechsel seien. Der schnelle Untergang solcher Kerne spricht im Gegentheil dafür, dass trotz der Uebernährung eine eigentliche Activität nicht zu Stande kommt[2]).

In den Kernen der Verdauungszellen wird dagegen gerade zugleich mit dem Chromatinreichthum und wahrscheinlich im engsten

1) Strasburger: Zellbildung und Zelltheilung III. Aufl. 1880 weist schon auf die wahrscheinliche Antheilnahme des Kernes bei der Bildung der Eiweisssubstanzen hin.

2) Ich hoffe in nicht allzu langer Zeit, bei Gelegenheit der Untersuchung der durch thierische Parasiten hervorgerufenen Zellveränderungen näher darauf eingehen zu können.

Zusammenhang mit ihm[1]) eine gewaltige Activität des Kernes erzeugt, die zumal in der amöbenartigen Form und Verzweigungen zum Ausdruck kommt. Im Gegensatz zu den Einbuchtungen und Faltungen altersschwacher Kerne, wofür die Kerne des Leitparenchyms von *Orchis* oder auch die Kerne der Pilzwirthzellen von *Neottia* als Beispiel dienen mögen, documentiren sie ein unaufhörliches Wechselspiel von Expansionen und Cohäsionen. Sicherlich sind die Bewegungen ganz unabhängig von der Umgebung und so stark, dass sie die Hyphen zur Seite drängen können. — Ganz entsprechende Kernformen und Bewegungen scheinen bisher von andern Pflanzen garnicht beschrieben worden zu sein. Abgesehen von den typisch zur Fragmentation führenden Kernformen, sind damit nur einige Kerne sehr stark ernährter Zellen, zumal typischer Nährzellen zu vergleichen. Es sind wieder die Tapetenzellen und Endospermzellen, ferner Zellen der Kleberschicht, und die vegetativen Zellkerne der Pollenkörner, die für die Ernährung der generativen Kerne von Wichtigkeit sind. — Um vieles häufiger sind ähnliche Fälle in thierischen Zellen, die in ausführlichster Weise von Korschelt[2]) zusammengestellt wurden. Er meint die Bedeutung aller dieser Erscheinungen in der Oberflächenvergrösserung sehen zu müssen und legt ihr für die postulirte Wechselwirkung zwischen Kern und Plasma erheblichen Werth bei. Wenn auch die Auflösung, resp. Verdauung der Pilzhyphen von der Stelle, wo sich der Kern befindet, oft unabhängig ist, wäre es doch denkbar, — nach den Experimenten von Hofer[3]) und Verworn[4]), die zeigen, dass die Verdauung in kernlosen Plasmastücken nur sehr schwach ist —, dass für solche Wechselwirkungen besonders den, während der Verdauung auftretenden, feinen Verzweigungen bei *Neottia* Bedeutung beizulegen ist.

Wenn auch so sicherlich eine Hauptbedeutung aller dieser Kernveränderungen in der Nahrungsaufnahme liegt, ist dennoch die innige Beziehung zu einem andern Process — und das macht

1) Die meistens hyperchromatischen Kerne scheinen von der runden Form abzuweichen, vergl. z. B. Flemming: Weitere Beobachtungen u. s. w. 1888. Arch. f. mikrosk. Anat. 33.

2) l. c.

3) Experimentelle Untersuchungen über den Einfluss des Kernes auf d. Protoplasma. Jen. Zeitschr. f. Naturw. 1890. XXIV p. 105.

4) Die physiologische Bedeutung des Zellkerns. Pflüg. Archiv LI, 1891. Biologische Protistenstudien I. Zeitschr. f. wiss. Zool. XLVI. 1888.

die Deutung der Veränderungen schwieriger — nicht ausser Acht zu lassen: die Ausscheidung und Umwandlung des Plasmas in die Membranstoffe des Klumpens. — Klebs[1]) hat zuerst die Frage des Einflusses der Kerne auf die Bildung der Zellmembran untersucht, und mittelst plasmolytischer Methode die Abhängigkeit der Bildung von der Anwesenheit des Kernes behauptet. Haberlandt[2]) hat dann beschrieben, wie der Kern häufig der Stelle einseitiger Wandverdickung oder Wachsthums der Zellmembran anliegt, resp. mit ihr durch quer die Zelle durchsetzenden Plasmasträngen verbunden ist. Doch wurde ihm weiterhin vielfach eingewendet, dass dies noch nicht eine besondere Antheilnahme des Kernes documentire, sondern dass der starke Nahrungsverbrauch an dieser Stelle einen starken Plasmastrom nöthig mache, der dann mehr zufällig den Kern mit sich reisse. Palla[3]) will auch an kernfreien Plasmastücken Cellulosebildungen gesehen haben, während Townsend[4]) im Anschluss an Pfeffer[5]) dies auf feine Plasmaverbindungen zurückzuführen sucht. Strumpf[6]) deutet diese Erfahrungen so, dass kernlose Stücke sehr junger Zellen in Folge starken Nährgehalts noch zur Membranbildung befähigt seien, ältere dagegen nur bei Anwesenheit des Kernes mit seinem reichen Gehalt an Proteïnen. So leugnet er die Bedeutung der Kerne bei der Membranbildung, meint auch, dass sonst die Kerne in Zellen mit sehr reger Membranbildung besondere Beschaffenheit erkennen lassen müssten. — Der augenscheinliche Zusammenhang zwischen dem Kern und der starken Membranstoffbildung im Klumpen ist nun in mancher Hinsicht entscheidend. Hier in Zellen mit überreichem Nährmaterial bildet sich die Cellulose nur in unmittelbarer Berührung mit dem Kern, der Kern aber zeigt deutlich dadurch, dass seine Membran an der Seite der Cellulosebildung verwaschen wird, und er feine Ausläufer entsendet, welche starken Wechselbeziehungen zwischen Kern und dem sich umwandelnden Plasma

1) Ueber den Einfluss der Kerne in der Zelle. Biol. Centr. 1887 VII.

2) Ueber die Beziehungen zwischen Function und Lage des Zellkerns bei den Pflanzen. Jena 1887.

3) Beobachtungen über Zellhautbildung an des Zellkerns beraubten Protoplasten. Flora 1890, 314.

4) D. Einfluss d. Zellkerns auf d. Bildung der Zellhaut. Jahrb. f. wiss. Botan. 1897 XXXI.

5) Zur Kenntniss der Plasmahaut und der Vacuolen u. s. w. Kg. sächs. Acad. d. Wiss. XVI.

6) Strumpf, Zur Histologie der Kiefer. Krakau. Abh. d. Acad. 1899.

vorhanden sein müssen. — Eine ganze Reihe von Bildern, zumal aber das manchmal eingetretene Verschwinden der Kerne am Schluss der Klumpenbildung, sind sogar wohl nicht anders zu deuten, als dass in der That direct stofflich bei der Cellulosebildung ein Substanzverlust der Kerne eintritt, der schliesslich bis zu seiner völligen Atrophie führen kann[1]). — Nur wieder auf thierischem Gebiete, bei der Ausscheidung der aus schwammigem Chitin bestehenden Eistrahlen von *Nepa cinerea* und *Ranatra linearis* (Korschelt) ist in den Doppelzellen ein schönes Analogon gegeben. Beide Zellkerne sind, ganz wie hier, wo die Bildung dort des Chitins, hier der Cellulose stattfindet, mit feinen Fortsätzen versehen, während nach Aussen der Kern scharf umgrenzt erscheint.

Die zweckdienliche Vertheilung der Kernsubstanz durch die ganze Zelle wird bei *Listera*, *Leeanorchis* und anderen Orchideen durch die häufige Fragmentation erreicht. — Es ist interessant, dass ganz entsprechende Fragmentationen während der Cellulosebildung in den Embryosackauswüchsen von *Pedicularis*, *Veronica*, *Plantago* [Tischler[2]), Buscalioni[3])] vorkommen, denen voraussichtlich für die Celluloseproduction gleiche Bedeutung zukommt: Vermehrung der Kernsubstanz und Vertheilung derselben durch die ganze Zelle[4]).

So ist, wie bei den directen Kerntheilungen in den Internodialzellen von *Chara*, diesen Kerntheilungen eine ganz bestimmte, physiologische Bedeutung beizulegen. Sicherlich sind sie bei den Orchideen keine Absterbeerscheinungen, sondern sie treten im Gegentheil zur Zeit der höchsten Activität auf, ebenso wie auch die Theilstücke noch starke Lebenskraft verrathen. So ist die jüngst von Pfeffer[5]) geäusserte Anschauung, auch in der Amitose

1) Vergleiche dazu die Rosen'sche Angabe über die Antheilnahme der Kerne in der Hautbildung der Myxomyceten. Beiträge z. Kenntniss etc. II. Cohn's Beitr. VII dagegen: Jahn: Z. K. d. Schleimpilzes *Comatricha obtusata*. Schwendener, Festschrift 1899.

2) Ueber die Verwandlung der Plasmastränge in Cellulose im Embryosack bei *Pedicularis*. Bonn. Diss. 1899.

3) Contributione allo studio della membrana cellulare, Bd. III 1893. Malpighia VI. u. Acad. Turino II, XLIII.

4) Vergl. hierzu: Strasburger: Ueber die Wirkungssphäre der Zellkerne und die Zellgrösse. Hist. Beitr. 1893 V.

5) Ueber Erzeugung und Bedeutung der Amitose. Sitz.-Ber. der kgl. sächs. Acad. d. Wiss. 1899.

ebenso eine physiologische Leistung der Kerne zu sehen, wie in der Mitose, auch für diesen Fall sicherlich richtig. Da es sich hier augenscheinlich nur darum handelt, die Kernsubstanz zu einer ganz bestimmten physiologischen Leistung zu vermehren, kam es aber nicht mehr darauf an, eine Erbgleichheit der Stücke erzielen zu wollen.

Dagegen ist es mir bis dahin noch nicht geglückt, in irgend welchen, von Zellneubildungen begleiteten Theilungen in höheren Pflanzen mit Sicherheit directe Kerntheilungen zu beobachten. Auch in den äusserst schnell und unregelmässig wachsenden Wucherungen der Gallplasteme konnten nur indirecte Theilungen beobachtet werden, falls die Zelle zu einer Weitertheilung befähigt war, sodass die Sicherstellung directer Kerntheilung im entwickelungsfähigen Callus hohes Interesse beanspruchen müsste.

Capitel III.

Das Zusammenleben.

Man könnte sagen, alle Veränderungen des Pilzes und der Pflanze während ihres Zusammenlebens sind nur Episoden eines erbitterten Kampfes. Dort in den Pilzwirthzellen wird der Pilz niemals besiegt, während die von ihm befallene, mit ihm kämpfende Zelle dahinsiecht; hier in den Verdauungszellen stirbt der Pilz nach oft heftiger Gegenwehr schliesslich vor der Uebermacht der Pflanzenzelle.

Die Verdauungszellen.

Der Protoplast der Verdauungszellen ist ein heimtückischer Gegner. Meist beginnt er nicht früher sein offenkundiges Zerstörungswerk, ehe sich nicht die Zelle mit dichtem Pilzknäuel erfüllt hat. Aber schon bald nach dem Eindringen des Pilzes übt er seine corrumpirende Wirkung aus. Der Pilz wird in dem üppigen Medium veranlasst seine kräftigste Waffe, die starke Membran nicht mehr zu entwickeln. Hat er sich einmal dieses Schutzes begeben, entflieht er nie mehr dem Grabe der Zelle. Er wird getödtet, im wahrsten Sinne des Wortes verdaut, und seine für die Pflanze unbrauchbaren Theile excrementirt. Welche Anstrengungen aber die Pflanzenzelle machen muss, seiner Herr zu werden, wie sie auch dann noch mit dem Pilz quasi kämpfen muss, kann aus der ins Colossale gesteigerten Activität der Kerne geschlossen

werden. — Der Verdauungsvorgang ist durchaus vergleichbar demjenigen, der sich bei den Insecten-fressenden Pflanzen vollzieht. Nur während dort die Verdauung extracellulär stattfindet, ist sie hier intracellulär, etwa nach dem Modus der nicht von festen Zellwänden umschlossenen Amöben. Sogar die Veränderungen der Zellkerne ähneln anfänglich sehr denen, welche bei der Insectenverdauung in *Drosera* auftreten, wenn sie auch auf allgemeinere Vorgänge der Nahrungsaufnahme resp. Activität zurückgeführt werden mussten. — Die Hautschicht, der von mancher Seite die alleinige Befähigung zugesprochen wird, die den Zellen zusagenden Bestandtheile auszuwählen, kommt hier augenscheinlich garnicht mehr in Betracht, sondern das lebende Plasma auch des Dermatoplasten scheint überall diese Fähigkeit zu besitzen[1]).

Für diese Zellen treffen also durchaus Frank's (91) Vorstellungen von den pilzverdauenden Pflanzen zu. Pfeffer (97) hatte sie jedoch mit Recht, so lange keine genaueren Angaben vorlagen, als unerwiesen hinstellen können. Er hatte gemeint, dass „ein solcher Schluss auch dann noch nicht gerechtfertigt wäre, wenn die normal abgestorbenen Pilzfäden von der Wurzel ausgenützt würden. Denn in solcher Weise werden auch die zu Grunde gegangenen Bakterien und Pilze in einer Reinkultur sogar von ihresgleichen aufgezehrt" (p. 359). Dagegen konnte hier gezeigt werden, dass ausnahmslos und auf sehr ungewöhnliche Art diese Hyphen in den Zellen absterben, d. h. direct getödtet werden, und dass hierzu die Pflanze, theilweise wenigstens sicherlich angepasste, eigenthümliche Veränderungen aufweist, die sich in jeder Beziehung als typisch für nahrungsaufnehmende Zellen erweisen. Nur mit Ausserachtlassung aller dieser Erscheinungen könnte man behaupten, dass diese Verdauung in den Zellen vielleicht doch nur eine unbedeutende Nebenerscheinung ist, nachdem die Hauptnahrungsaufnahme schon vorher, während des ungestörten Lebens der Hyphen, sei es direct durch osmotischen Austausch, sei es durch ihre fermentativen, assimilatorischen oder dissimilatorischen Wirkungen auf das umgebende Medium geschieht. Beachtet man aber, welche äusserst kurze Zeit zwischen dem Einwandern des Pilzes in solche Zellen wachsender Wurzeln und der beginnenden Verdauung verstreicht, wie der entwickelte Pilz sofort verdaut wird,

---

1) Ueber die Anwesenheit typischer Verdauungssäfte wurden keine Versuche angestellt.

so scheint auch dieser Einwand hinfällig. Es könnte sich hierbei nur um äusserst geringe, kaum in Betracht kommende Wirkungen handeln.

Sehr bedeutsam erscheint die Allgemeinheit, mit der solche mit dichter Nährsubstanz erfüllten hypertrophirten Organe bei fast sämmtlichen endotrophen *Mycorrhiza*-Pilzen auftreten, und schliesslich von der Pflanze resorbirt werden. Schon Frank (91) konnte, um die Verdauung der Pilze in Orchideen wahrscheinlich zu machen, auf die Bakteroiden der Leguminosen, auf die Eiweissbläschen der Erle, auf die dichten Pilzknäule der Ericaceen hinweisen. Inzwischen haben die Arbeiten Groom's (95a, b) und Janse's (96) die Anwesenheit der „Sporangiolen" in fast allen Mycorrhizen gezeigt. Wir haben hier den umfassenden Verdauungsprocess der Orchideen in seinen Einzelheiten kennen gelernt. So scheinen diese Organe sehr wichtig zu sein. Der Pilz muss degeneriren, um von der Pflanze ausgenutzt werden zu können, sie ist nicht im Stande der lebenden Pilzzelle alle nöthigen Stoffe zu entziehen. — Da aber bei *Neottia* die Hyphen von zwei Dritteln aller Zellen sofort der Degeneration, Auflösung und Verdauung anheimfallen, sie zugleich, die für die Nahrungsaufnahme und Abgabe wichtigste Stelle der pilzbewohnten Schicht nach aussen und innen einnehmen, lässt einen Analogieschluss auch allen übrigen solchen Degenerationsprocessen in endotrophen Mycorrhizen eine hervorragende, vielleicht Hauptbedeutung beilegen.

Da nun entgegengesetzt der herrschenden Meinung festgestellt wurde, dass der Pilz mit seinen nur spärlich und unregelmässig nach aussen tretenden Hyphen unmöglich als Absorptionsorgan aufzufassen sei, kann nur der Pilz in der Pflanze selbst alle Nahrungsstoffe zur Erzeugung dieser Hypertrophien finden. Die Producte, die die Pflanze ihm entnimmt, wären also dann dieselben, die sie selbst aus dem Substrat aufgenommen, die Function des Pilzes in der Zelle wäre nur, diese Stoffe in seinem Körper dissimilatorisch oder assimilatorisch umzuändern, jedenfalls für die Pflanze nutzbar zu machen. — In dieser Beziehung würde sich dann der Pilz nicht anders verhalten, wie die zu Bakteroiden sich verändernden Bakterien der Leguminosen oder der Wurzelpilz von *Alnus*, die ebenfalls nur durch das Plasma der Wirthzelle hindurch mit der Aussenwelt in Verbindung stehen, allerdings nach der herrschenden Auffassung auch nur gasförmigen Stickstoff zu assimiliren haben.

Die Pilzwirthzellen.

Eingeschlossen auf beiden Seiten von den Verdauungszellen, abgeschlossen durch sie von der directen Verbindung nach Aussen und Innen, liegen die Zellen, in denen der Pilz normaler Weise nie stirbt, die Pilzwirthzellen. Nicht wie in den Verdauungszellen hat der Zellkern jene übermässige Activität und bleibende Grösse. Nach wenigen Bewegungen scheint die Zelle, wenn wir als ihren Repräsentanten den Zellkern nehmen, der Uebermacht sich zu fügen. Der Kern wird kleiner und kleiner, kann schliesslich gänzlich atrophiren. Die Unterschiede zwischen dem Kern der Verdauungszellen und dem Zellkern der Pilzwirthzellen tritt in gewisser Weise noch schärfer bei den andern Orchideen hervor. — Hier unterscheiden sich die Kerne der typisch nach Aussen liegenden klumpenlosen oder nur rudimentäre Klumpen enthaltenden Zellen — Pilzwirthzellen in weiterem Sinne — wenig odr garnicht von dem Kern der nicht inficirten Zellen, aber sehr scharf von dem hypertrophirten und hyperchromatischen Zellkern der immer Klumpen enthaltenden Verdauungszellen [1]). Wie aber die Kerne der Verdauungszellen der andern Orchideen nicht jene hohen Activitätszustände der Kerne von *Neottia* zeigen, so werden auch die Kerne ihrer Pilzwirthzellen nicht in dem Grade von dem Pilz mitgenommen, wenn sie auch gewisse Zeichen lebensschwacher Zellen verrathen. Die Pflanze kann auch diese Zellen nicht in dem Maasse dem Pilze zum Opfer bringen, da sie durch ihre peripherische Lage noch für andere Zwecke, zumal der Nahrungsaufnahme der Pflanze dienstbar sein müssen.

Nicht so leicht wie die Bedeutung der Verdauungszellen ist die der Pilzwirthzellen aus ihrem anatomischen Verhalten zu erkennen, doch sind auch hierfür einige Anhaltspunkte gegeben. Die gleichen Gründe, die die Auffassung der Ringhyphen mit ihren Modificationen als Stamm des Pilzes unmöglich machten, sprechen auch gegen ihre physiologische Bedeutung als Leitorgane des Gesammtpilzes, der alle Auszweigungen mit den nöthigen Nährstoffen versorgt oder deren Producte ableitet. Aber auch von der anatomischen Unmöglichkeit abgesehen, könnte es sich, da ja eine

1) So ist auch mit ziemlicher Sicherheit zu sagen, dass die beiden Arten Zellkerne, die Dangeard 97 für *Ophrys* beschreibt und von deren Bedeutung er sich keinerlei Vorstellungen machen kann, eben die Zellkerne der Pilzwirth- und Verdauungszellen gewesen sind.

Leitung vom Substrat nach Innen für *Neottia* nicht in Betracht kommt, nur um die Zuleitung von Nährstoffen aus den meristematischen Pilzzellen handeln. Da die Verdauungszellen aber sehr bald nichts weiter vom Pilz als den absolut todten Excrementklumpen enthalten, wäre es völlig unnöthig, dass diese Hyphen dann noch selbst weiter am Leben blieben, was ganz ausnahmslos und noch sehr lange der Fall ist. — Da weiter für die endotrophe *Mycorrhiza* im Allgemeinen angenommen wird, dass ihre Hauptbedeutung in dem Nahrungsaustausch zwischen den lebenden Hyphen und dem Plasma der Wirthszelle besteht, dies aber für die Verdauungszelle nicht oder kaum in Betracht kommen kann, könnte man einen regen Stoffaustausch in diesen Zellen vermuthen. Es liesse sich auch denken, dass der Pilz auf die rohen Nahrungssäfte der Zelle eine fermentative Wirkung ausübe. Für solche Auffassung könnte dann vielleicht noch das trübe und reiche Plasma dieser Zellen ins Feld geführt werden. Dennoch kann nicht angenommen werden, dass die Pflanze aus diesen Zellen irgendwie erhebliche Nahrungsmengen aufnimmt. Es ist überhaupt undenkbar, Zellen, die solche Function hätten, eine hierfür ungünstigere Stelle in der pilzbewohnten Schicht anzuweisen, wo sie sowohl nach aussen wie nach innen durch die mit todten Klumpen erfüllten Verdauungszellen abgeschnitten sind, während sie doch von Aussen den rohen Nahrungssaft aufnehmen, nach Innen den veränderten abgeben müssten. Ferner zeigt der Zellkern nicht die Veränderungen, welche Zellen mit starkem Stoffwechsel zu haben pflegen; er ist eher der Zellkern einer unterernährten Zelle. Aus der starken Plasmavermehrung und seiner Trübung ist aber, wie das analoge Verhalten des Plasmas beim Eindringen sicherlich rein parasitärer Pilze zeigt, kein Schluss auf die Nahrungsaufnahme durch diese Zellen zu ziehen. — Wenn also diese Zellen für die Wirthspflanze keinen Nutzen haben, wird man ohne Weiteres dazu geführt, dem andern Symbionten, dem Pilz, den alleinigen Vortheil aus dieser Differenzirung zuzuweisen, während er in den Verdauungszellen nur Schaden erlitten hat. Zwar tödtet der Pilz nicht die Pflanzenzelle, wie der Protoplast in den Verdauungszellen den Pilz, muss er doch auch von ihr bis zum Schluss der Vegetationsperiode ernährt werden. Er verhält sich so nur genau wie viele andere nicht kteinophyte Parasiten. — Da ein grosser Theil des Pilzes sich zum Schutz gegen das Plasma mit starker Membran versieht, die wenig zur Nahrungsaufnahme geeignet erscheint, ist er gezwungen, zu dieser parasitischen Lebensweise

feine Hyphen zu entsenden, die zur Nahrungsaufnahme die Zelle nach allen Richtungen durchsetzen, die Haustorienhyphen. In diesen Zellen vermag dann auch der Pilz die Rindenhyphen auszubilden, Organe, die den Tod der Mycorrhizen überleben und auch wohl geeignet erscheinen, ausserhalb der Pflanze die Strapazen des Winters zu überdauern. — So findet der Pilz, ganz allgemein gesprochen, seine Nahrung, Schutz und Sicherheit der Fortpflanzung, während er dafür in den anderen ein Theil seiner selbst opfern muss. Dies erscheint aber wichtig genug, alle Anpassungen zu erklären, wenn nur der Organismus als ein solcher erhalten bleibt. Es ist nicht anders, als wenn bei den Polysiphoneen nur die Geschlechtsthiere directe Nachkommen haben, nicht anders, wie sich mutatis mutandis alle Zellen der Keimbahnen zu den somatischen Bahnen verhalten.

Muss aber diese Bedeutung den Pilzwirthzellen der sicherlich hochdifferenzirten *Neottia* beigelegt werden, so ist vielleicht auch der Pilz in den peripherischen Pilzzellen anderer Orchideen, der bisher ausschliesslich als Leitorgan zwischen dem Substrat und den inneren Pilztheilen angesehen wurde, nur parasitärer Natur[1]). Hier brauchen andererseits einzelne Zellen dem Pilz nicht völlig geopfert zu werden, da die peripherische Lage der Hyphen, ihr Aufenthalt in den Wurzelhaaren, und nicht zum Wenigsten ihre Verbindungen nach Aussen ihnen vielmehr Gelegenheit zu geben scheint, sehr bald, wenn es nothwendig, aus der parasitischen Lebensweise in die saprophytische, aus der sie sicherlich hervorgegangen, zurückzukehren.

Für viele andere *Mycorrhiza*-bildenden Pilze ist die Erhaltung des Pilzes durch eine andere besondere Entwickelungsweise zu Stande gekommen. Es werden hierzu die „Vesikel“ mit ihren dauerhaften Membranen gebildet. Doch zeigt auch hier noch die periphere Lage der Gebilde in Zellen, in denen überhaupt die

---

1) Auch Frank (92) scheint ähnliches zu glauben. „Hier dürfte jedoch der Pilz bei der Nahrungsaufnahme in der Wurzel nicht so ausschliesslich in Betracht kommen, da er ja nicht die Oberfläche derselben einnimmt, sondern innerhalb der Zelle lebt, und wenn er auch mit einzelnen Fäden an die freie Wurzeloberfläche reicht, so scheint doch die letztere selbst nicht unbetheiligt an der Nahrungsaufnahme zu sein, und es ist auch nicht ohne Weiteres zu entscheiden, ob nicht der Pilz selbst von der Wurzel mit Nahrungsstoffen versehen wird.“

Hyphen keine Degenerationserscheinungen entdecken lassen, dass diese Zellen wenigstens zum Theil die Functionen der Pilzwirthzellen haben[1]).

Der Gesammtorganismus.

Während in jeder Einzelzelle der *Mycorrhiza* von *Neottia* ein Kampf auf Leben und Tod zwischen den Symbionten gekämpft wird, ist das Gesammtbild der *Mycorrhiza* ein Muster für Gesetzmässigkeit und Ordnung. Wie in einem einheitlichen Organismus ist genau vorhergesehen, welche Zellen pilzbewohnt sind, und in welchen von ihnen der Pilz die Oberhand gewinnen soll. — Zu keinem so einheitlichen gesetzmässigen Organismus haben sich die Symbionten bei den andern Orchideen entwickelt. Sind auch hierzu in der überall auftretenden Schichtenbildung die ersten Anfänge gegeben, ist doch den einzelnen Symbionten ein viel weiterer Spielraum für ihre Entwickelung gelassen. Es kann noch vorkommen, dass in einer Zelle der anscheinend überwundene Pilz die schon fast siegende Zelle tödtet: Pilzüberwucherung bei *Cephalanthera*; oder auch, dass der eine Symbiont im ganzen Organismus dem andern geopfert wird, wenn nämlich der Pilz in der ganzen Wurzel verdaut wird.

Für *Neottia* laufen alle Anpassungen in ihren Hauptzügen darauf hinaus, in bestimmten Zellen einen Pilz zur späteren Verspeisung zu ziehen, und in andern möglichst abgesondert gelegenen Zellen dem Pilz eine gesicherte parasitäre Lebensweise zu ermöglichen — also eine typisch mutualistische Symbiose mit sichtbarem Vortheil für beide Theile.

Dennoch, in welchen chemischen Qualitäten diese Vortheile eigentlich bestehen, welche Fähigkeiten zur Verwerthung der aus dem Substrat aufgenommenen Nahrung dem einen abgehen oder dem andern in erhöhtem Maasse zukommen, darüber kann aus

1) Eine sehr typische, noch genauer zu untersuchende, nicht in Schichten auftretende Differenzirung in Pilzwirth- und Verdauungszellen, dort mit dicken braunen, nie degenerirenden, hier mit feinen, sehr schnell degenerirenden Hyphen scheinen auch die Ericaceen — ich untersuchte *Vaccinium* und *Erica* — zu besitzen. Frank, Lehrbuch, Fig. 164 C giebt eine solche Abbildung, doch ohne entsprechende Deutung von *Andromeda polifolia*, während in Pfeffer (97) Fig. 54 von *Calluna* wohl nur Pilzwirthzellen abgebildet sind.

diesen rein anatomischen Untersuchungen kein positiver Schluss gezogen werden. Es kann nur auf Grund dieser Thatsachen die Wahrscheinlichkeit der aufgestellten Theorien geprüft werden. — Da so gut wie alle Saprophyten solche Mycorrhizen besitzen, wurde die Bedeutung des Pilzes in der Assimilation organischer Substanzen gesehen, da „der Pilz eine besondere Fähigkeit für den osmotischen Durchgang organischer Nahrung entwickelt, und dann die Uebertragung in die höhere Pflanze verhältnissmässig leicht ist“ (Mac Dougal 99a). Bei *Neottia* scheinen jedenfalls osmotisch alle zur Ernährung dienenden Stoffe direct von der Pflanze aufgenommen zu werden. Andererseits scheint eine Uebertragung von hochmolecularen Stoffen vom lebenden Pilz auf die Pflanzenzelle in diesem Falle[1]) gerade recht schwer zu sein, da die Pflanze, um sie zu verwerthen, anscheinend gezwungen ist, den Pilz vorher zu tödten. — Frank (92) lässt die Frage unentschieden, ob es sich um Nutzbarmachung der Kohlenhydrate oder Stickstoff-haltiger Stoffe des Bodens für die Pflanze handele. — Der Ueberschuss des Cellulosevorraths, wie er sich bei der Klumpenbildung documentirt, deutet eher auf letzteres hin. Auch soll bei andern näher bekannten Symbiosen der Pilz für die Beschaffung des Stickstoffes Sorge tragen: Bakterien der Leguminose, *Frankia* in Alnus, Flechten. So wäre es in der That möglich, dass „es sich um die Assimilation von Ammoniaksalzen handelt, die für die meisten Pflanzen eine weit schlechtere Stickstoffnahrung sind, als Salpetersalze, die gerade im Waldboden öfters nur spärlich vorhanden sind“ (Pfeffer 97). Dagegen macht der gänzliche Mangel von Intercellularen in der pilzbewohnten Schicht, von andern dagegen sprechenden Gründen abgesehen, Janse's (96) Annahme, dass es sich bei den Mycorrhizen-Symbiosen überall um die Verwerthung des Stickstoffes der Luft handelt, sehr unwahrscheinlich[2]).

Die ständige Symbiose der chlorophyllfreien Pflanze mit Pilzen[3]) hat naturgemäss einen Zusammenhang der Kohlenstoff-

1) Anders vielleicht bei Flechten und ectotrophen Mycorrhizen.

2) Eine Stickstoffassimilation aus der Luft wird von Nobbe und Hiltner (99) für die *Mycorrhiza* von *Podocarpus*, wie jüngst für die Früchte von *Lolium temulentum* mit ihrem Pilzmycel behauptet.

3) Ausgenommen sind nur: *Wullschlegelia aphylla* (Johow 89) und *Cephalanthera oregana* (Mac Dougal 99a).

gewinnung sehr nahe gelegt. Dennoch ist man nicht berechtigt, die Reduction des Chlorophylls in directen Zusammenhang mit dem Auftreten der *Mycorrhiza* zu bringen. — So lange noch die Gesammtbiologie und Physiologie der humusbewohnenden Pflanzen so wenig bekannt, die exceptionellen Factoren der Chemie des Substrates, der Feuchtigkeit des Bodens und der Luft, des Lichtmangels so wenig untersucht, erscheinen alle solche Schlüsse sehr gewagt. Nur experimentell-physiologische Untersuchungen aller Ernährungsbedingungen können darüber Aufschluss geben, für die diese genaue anatomische Untersuchung vielleicht auch eine wünschenswerthe Vorarbeit ist.

Resultate.

1. Der wurzelbewohnende Pilz besitzt sehr wenige und unregelmässige Verbindungen nach Aussen, die für die Nahrungsaufnahme der Mycorrhizen nicht in Betracht kommen können.

2. Die Seitenwurzeln werden meist vom Rhizom aus inficirt.

3. Ausschliesslich und ausnahmslos sind in der Wurzel die 3 4 ersten Zellschichten unter der Exodermis bewohnt; im Rhizom und Stengel können bis 6 Zellreihen inficirt sein.

4. Die Hyphen werden vom Zellkern nicht angezogen. Dass sich parasitäre Pilze mit ihren Haustorien oft an den Zellkern legen und sich in seiner Nähe eigenthümlich verzweigen, gestattet keinen Rückschluss auf die Bedeutung des Kernes als Nahrungscentrum der Zelle.

5. Der Pilz differenzirt sich in den Wurzelzellen in zwei, während ihres ganzen Entwickelungsganges völlig verschiedenen, ganz bestimmten Formen, die keinerlei Uebergänge unter einander aufweisen.

6. In der Pilzwirthzelle degenerirt der Pilz nie. Dickwandigere Hyphen laufen, Ringe bildend, in verschiedenen Modificationen an der Zellwand entlang und entsenden feinere, dünnwandige, die ganze Zelle durchsetzende Haustorienhyphen, die zum Nahrungsdurchlass wohl geeignet erscheinen. Die umrindeten Ringhyphen bleiben beim Absterben der Wurzel am Leben.

7. In der Verdauungszelle degenerirt der Pilz immer. Dünnwandige, protoplasmareiche Hyphen durchwachsen in dichtem Knäuel die Zelle. Sehr bald sterben sie so, oder nachdem sie Eiweiss gespeichert haben (Eiweisshyphen) ab, ihr Inhalt wird von der Zelle aufgenommen und die Reste werden zusammengepresst, gleichzeitig oder nur an einer, meist in der Mitte der Zelle liegenden Stelle beginnend: simultane und locale Klumpenbildung. Dann werden sie zusammen mit einem Theil des pflanzlichen Plasmas als Klumpen ausgeschieden. Er ist ein absolut todtes, unver-

änderliches, aus pflanzlichen und pilzlichen Stoffen bestehendes Ausscheideprodukt.

8. Von den pilzbewohnten Schichten nehmen die Verdauungszellen die äussere und innere, die Pilzwirthzellen die mittlere ein. Die Vertheilung der Differenzirungen im Rhizom ist regellos.

9. Die Pilze anderer Orchideen zeigen die Anfänge zu gleichen Differenzirungen. Die Eintheilung der Orchideen-Mycorrhizen hat nicht nach den Klumpen, sondern nach dem Grad der Differenzirung überhaupt zu erfolgen.

10. Ein dritter Commensurale, ein parasitärer Pilz lebt hauptsächlich von dem für die beiden anderen Symbionten unverwerthbaren Klumpen.

11. In den nicht inficirten Wurzeln unterscheiden sich von den übrigen Rindenzellen die typisch pilzbewohnten Zellen, die der Pilz noch vergrössert. Ebenso beeinflusst er auf Entfernung die später zu inficirenden, sodass sie sich vergrössern, und bringt ebenso sonstige Veränderungen im Gesammtbau hervor.

12. Das Plasma umkleidet continuirlich den Pilz in der Zelle und vermehrt sich stark. Während des Absterbens des Pilzes in den Verdauungszellen findet unter eingreifenden Auflösungsprocessen reichliche Vacuolenbildung statt. Die an der pilzrestefreien Wandschicht ansetzenden Vacuolen vereinigen sich zu einem grossen Saftraum und scheiden dadurch den Klumpen aus, der entweder im Saftraum suspendirt bleibt, oder durch Bildung einer neuen, ihm anliegenden Plasmaschicht völlig aus dem Protoplasten herausbefördert wird.

13. Der Regel nach stirbt das Plasma vor dem Absterben der Gesammtwurzel in keiner pilzbewohnten Zelle ab.

14. Das im Klumpen ausgeschiedene Plasma wird in eine celluloseartige Substanz umgewändelt. Die Fähigkeit, im Innern der Zelle Membranstoffe zu bilden, scheinen alle höheren Pflanzen zu haben.

15. Beim Einwandern des Pilzes entsteht feinkörnige Stärke, die bald verschwindet, aber nach seinem Absterben in modificirter Form wieder auftritt.

16. Die Kernveränderung besteht successive: in einer Chromatinansammlung, wohl als nicht zu Stande gekommene Mitose zu deuten, nicht zur Amitose führenden, ziemlich regelmässigen Einschnürungen und gleichzeitiger starker Chromatophilie.

17. Die weiteren Veränderungen in den Verdauungszellen in Hyperchromatie und Verzweigungen in Amöbenform. Nach dem Verdauungsprocess kehren die Kerne in ihre Kugelform fast stets zurück.

18. Die weiteren Veränderungen in den Pilzwirthzellen in Abrundung, Auftreten unregelmässiger Chromatinballen und allmähliche Atrophirung.

19. Der Kern liegt immer an der Stelle des sich in celluloseartiger Masse umwandelnden Plasmas. Er verliert an der Seite der Klumpenbildung seine scharfe Abgrenzung und sendet feine Fortsätze aus, während die entgegengesetzte Seite meist scharf umgrenzt ist. Bei der localen Klumpenbildung bewegt er sich nach Bildung des mittleren Theiles des Klumpens amöbenartig nach Aussen, und wird dann ebenso die zweite Hälfte des Klumpens gebildet.

20. Die Kerne von *Listera Ovata* und *Orchis Maculata* weisen analoge Veränderungen auf. Im hypertrophirten Zustand der Kerne machen sich die individuellen Eigenschaften der Species sehr bemerkbar.

21. Die Fragmentation bei *Listera* und *Orchis* und in anderen Mycorrhizen sind keine Absterbeerscheinungen, sondern angepasste physiologische Leistungen activirter Kerne.

22. Soweit aus rein anatomischen Thatsachen ersichtlich, besteht die physiologische Bedeutung der Verdauungszellen in einem ausschliesslichen Nutzen für die höhere Pflanze, die dort den substanzenreichen Pilz tödtet, verdaut und excrementirt, die Bedeutung der Pilzwirthzelle in einem ausschliesslichen Nutzen für den Pilz, der dort rein parasitär wächst, den Protoplast schädigt, schliesslich Organe bildet, die geeignet erscheinen, ausserhalb der Pflanze zu überwintern.

23. Voraussichtlich gleiche physiologische Bedeutung haben die ohne solche feste Regelung auftretenden Differenzirungen in Pilzwirth- und Verdauungszellen bei den anderen Orchideen-Mycorrhizen, ebenso wie sie bei fast allen anderen endotrophen Mycorrhizen in der „Schichtenbildung“ zum Ausdruck kommen.

Litteratur-Verzeichniss

über *Mycorrhiza*-Bildungen (excl. Wurzelknöllchen der Erle, Eleagnaceen und Leguminosen, ebenso der Symbiose der Algen). Mit * sind bezeichnet die selbst eingesehenen Schriften, die Zahlen geben das Jahr des Erscheinens 18.. an.

93 Atkinson. Symbioses of the Roots of the *Ophiogloss-aceae*. Bull. of th. Torrey Bot. Club. XX, 356.

76 Boudier. Du parasitisme probable de quelques espèces du genre *Elaphomyces* et de la recherche de ces Tubéracées. Bull. de l. soc. bot. de France XXIII, 115.

*99 Bernatzky. Beiträge zur Kenntniss der endotropischen Mycorrhizen. Budapest, Temesc. Füz. Ungarisch und deutsch. XXII, Part. 3, 4.

*85 Bruchmann. Die Prothallien von *Lycopodium*. Bot. Centr. XXI, 311.

*94 Bruns. Beiträge zur Kenntniss der Gattung *Polysacum*. Flora LXXVIII, 67.

*96 Cavara. Ipertrophie ed anomalie nucleari in seguito a parasitismo vegetali rivista d. Patol. veget. Firenze V, 5—8.

97 —, Franz. Rev. Mycol. XIX, 94.

*98 Chodatu. Lendner. Sur les mycorrhizes du *Listera cordata*. Rev. Mycol. XX, 10.

*91 Dangeard. Notes sur les mycorrhizes endotrophiques (Tmesipteris). Le Botani. II.

*97 Dangeard et Armand. Observation de biologie cellulaire. Le Botaniste V.

*98 — —. Gekürzter Abdruck. Mycorrhizes d' *Ophrys arachnifera*. Rev. Mycol. XX, 13.

97 Delacroix. Die Krankheit der Edelkastanien. Bull. de l. soc. mycol. de France 247.

*73 Drude. Die Biologie von *Monotropa Hypopitys* u. *Neottia Nidus avis* unter vergleichender Heranziehung anderer Orchideen. Göttingen, Preisschrift.

88 De Fery. La truffe.

*96 Figdor. Ein Beitrag zur Kenntniss tropischer Saprophyten. Ann. d. J. d. Buitenzorg. XIV, 213.

*85 Frank. Ueber die auf Wurzelsymbiosen beruhende Ernährung gewisser Bäume durch unterirdische Pilze. Ber. d. deutsch. Bot. Gesell. III, 128, XXVII.

*87 —. a. Ueber neue *Mycorrhiza*-Formen, ebenda V, 395.

*87 —. b. Tagbl. d. 60. Naturforsch. Vers. Wiesbaden.

*88 —. Ueber die physiologische Bedeutung der Mycorrhiza. Ber. d. deutsch. Bot. Ges. VI, 248.

*91 —. Ueber die auf Verdauung von Pilzen abzielende Symbiose der mit Endotrophen-Mycorrhizen begabten Pflanzen, sowie der Leguminosen und Erlen, ebenda IX, 244.

*92 —. Lehrbuch der Botanik. I. 260, 548.

*96 —. Krankheiten der Pflanze. 2. Aufl. I.

*83 Gibelli. Nuovi studi sulla mallatia del Castagno della dell' inciostro. Acad. Bologne IV, 4.

*87 Göbel. Ueber Prothallien und Keimpflanzen von *Lycopodium innudatum*. Bot. Zeit. ILV, 160.

*95 Grevillius. Ueber *Mycorrhiza* bei der Gattung *Botrychium* nebst etc. Flora LXXX, 445.

*94 Groom. Contributions to the knowledge of monocotyledons saprophytes. Journ. Linn. Soc. XXI, 149.

*95a Groom. A new saprophytic Monocotyledon. Ann. of Bot. IX, 33.
*95b —. On *Thismia Aseroe* and its *mycorrhiza*. Ebenda, IX, 34.
86 Hartig. Ueber symbiotische Erscheinungen im Pflanzenleben. Bot. Centr. XXV, 350.
*92 Höveler. Ueber die Verwerthung des Humus bei der Ernährung der chlorophyllführenden Pflanzen. Jahrb. f. wiss. Bot. XXIV, 302 (Berl. Diss.).
*96 Janse. Les endophytes radicaux de quelques plantes javanaises. Ann. de jard. d. Buitenzorg. XIV, 53.
*98 Jeffrey. The gametophyte of *Botrychium virginianum*. Univ. of Toront. stud.
*85 Johow. Die chlorophyllfreien Humusbewohner Westindiens. Biologisch-morphologisch dargestellt. Jahrb. f. wiss. Bot. XVI, 445.
*89 —. Die chlorophyllfreien Humuspflanzen nach ihren biologischen und entwicklungsgeschichtlichen Verhältnissen. Ebenda, XX, 475.
*53 Irmisch. Beiträge zur Biologie und Morphologie der Orchideen.
81 Kamiensky. Die vegetativen Organe von *Monotropa hypopitys*. Extr. d. mem. d. soc. nat. et math. Cherbourg XXIV, 12. Deutsch: Bot. Zeit. XXXIX, 457.
86 —. Arbeit d. Petersburg. Naturf.-Gesellsch.
89 Kühn. Marattiaceen. Flora 121.
85 Kummer. Die Räthsel der *Mycorrhiza*. Forstl. Blätt.
87 Lecomte. Bull. d. l. soc. bot. de France.
*95 Ludwig. Lehrbuch der Biologie der Pflanzen. S. 34.
89 Lundström. Einige Beobachtungen über *Calypso borealis*. Bot. Centr. XXXVIII, 697.
98 Mac Dougal. The mycorrhiza of *Aplectrum*. Torr. bot. club. XXV, 110.
*99a —. Symbiotic saprophytisme. Ann. of Bot. XIII.
*99b —. Symbiose and saprophytisme. Bot. Gaz. 220.
*85 Magnus, P. Ueber *Mycorrhiza* an *Vaccinium Myrtillus* nach F. Ludwig. Verh. d. bot. Ver. d. Prov. Brand.
*98 Mangin. Sur la structure des mycorrhizes. Comp. rend. CXXVI, 13.
87 Mattirolo. Sul parassitismo dei Tartufi et sulla questione delle *Mycorrhizae*. Messina.
*84 Mollberg. Untersuchung über die Pilze in den Wurzeln der Orchideen. Jen. Zeitsch. f. Naturw. XVII, 519.
*97 Molliard. Hypertrophie pathologique des cellules végétales. Rev. gen. d. bot. IX, 32.
86 Müller, P. E., Die *Mycorrhiza* der Buche. Bot. Centr. XXVI, 22.
*99 Nemec. Die *Mycorrhiza* einiger Lebermoose. Ber. d. deut. bot. Ges. XVII, 311.
*89 Noack. Ueber *Mycorrhiza*-bildende Pilze. Bot. Zeit. IIIL, 389.
*99 Nobbe u. Hiltner. Die endotrophe *Mycorrhiza* von *Podocarpus* und ihre physiologische Bedeutung. Landw. Versuchsst. LI, 2, 3.
90 Olivier. On *Sacerdotes sanguinea*. Ann. of Bot. IV, 304.
*85 Penzig. Die Krankheiten der Edelkastanie und B. Franks *Mycorrhiza*. Ber. d. deutsch. bot. Ges. III, 301.
*77 Pfeffer. Ueber fleischfressende Pflanzen und über Ernährung durch Aufnahme organischer Substanzen überhaupt. Landwirt. Jahrb. VI, 969.
*97 —. Pflanzenphysiologie. I. Leipz.
*56 Prillieux. De la structure anatomique et du mode de végétation de *Neottia Nidus avis* L. Ann. d. scienc. nat. IV.
85 Rees. Ueber *Elaphomyces* und sonstige Wurzelpilze. Ber. d. deut. bot. Ges. III, 293.

87 Rees u. Fisch. Untersuchung über Bau und Lebensgeschichte der Hirschtrüffel. *Elaphomyces*. Bibl. Botan.
*73 Reinke. Zur Kenntniss des Rhizoms von *Corallorrhiza* und *Epipogon*. Flora LVI, 145.
46 Reisseck. Die Endophyten der Pflanzenzelle. Wien.
*54a Schacht. Beiträge zur Anatomie und Physiologie der Gewächse. Berl. 129.
*54b —. Monatsber. d. Acad. d. Wiss. zu Berlin.
*49 Schleiden. Grundzüge der Botanik. (3. Aufl. 1854, 301.)
*89 Schlicht. Beitrag zur Kenntniss der Verbreitung und Bedeutung der Mycorrhizen. Landw. Jahrb. XVIII, 14. (Berl. Dissert.)
96 Sarauw. Rodsymbiose og Mycorrhize sörling das showtärne. Botnis. Fidd. XVIII.
99 Schrenk. On a sclerotioid disease of beach roots. Miss. Bot. gard. X.
93 Thomas. The genus *Corallorrhiza*. Bot. Gaz. XVIII, 166.
*87 Treub. Etudes sur les Lycopodiacées. Ann. d. jard. bot. d. Buit. V, 110.
*95 Tubeuf. Pflanzenkrankheiten. Stuttgart.
*96 —. Ueber die Haarbildungen der Coniferen. Forst.-naturw. Zeitsch.
40 Unger. Beitrag zur Kenntniss der saprophytischen Pflanzen. Wien.
*96 Vaughan Jennings. Note on *Corallorrhiza innata* R. Br. and its associated Fungi. Liverpool.
*99 — — and Hanna. *Corallorrhiza innata* R. Br. and its Mycorrhiza. Sc. proc. of the roy. Dublin soc. IX, 1.
*90 Vuillemin. Les Mycorrhizes. Rev. gen. d. scie. pur. et app.
*86 Wahrlich. Beitrag zur Kenntniss der Orchideenwurzelpilze. Bot. Zeit. XLIV, 481.
*85 Woronin. Ueber die Pilzwurzel von B. Frank. Ber. d. deut. bot. Ges. III, 205.

Figuren-Erklärung.

Z. I. Zeiss: Hom. Immers. Apochrom. N. Apert. 1,30, Aeq. Brenn. 3,0. — C. O. Zeiss: Compens. Ocular. — Z. D. Zeiss: Trock. Syst. D. — L. I. Leitz: Homm. Imm. 1/16. N. Ap. 1,30, Aeq. Br. 4,3. — L. 7. Leitz: Trock. Syst. 7 — L. O. und Z. O. Leitz und Zeiss: Huygens'sche Ocul. Die Figuren wurden in der Höhe des Objecttisches mit dem Abbé'schen Zeichenprisma entworfen; die Vergrösserungszahlen sind die theoretischen.

Tafel IV.

1. *Neottia*. Pilzwirthzelle. Längsschnitt. Z. I. C. O. 4 (333).
2. „ „ Querschnitt. Z. I. C. O. 4 (333).
3. „ Verdauungszelle, jung. Z. I. C. O. 4 (333).
4. „ „ mit Eiweisshyphen. Z. I. C. O. 4 (333).
5. „ „ Beginn der Klumpenbildung. Z. I. C. O. 4 (333).
6. „ „ Klumpen fast fertig. Z. D. Z. O. 4 (420).
7. *Cephalanthera*. Klumpen mit wanddurchsetzenden Verbindungen. Z. D. Z. O. 2 (240).
8. *Neottia*. Verdauungszelle, fast fertiger, sehr kleiner Klumpen. Z. I. C. O. 4 (333).
9. *Neottia*. Verdauungszelle, locale Klumpenbildung. Z. I. C. O. 4 (333).

Tafel V.

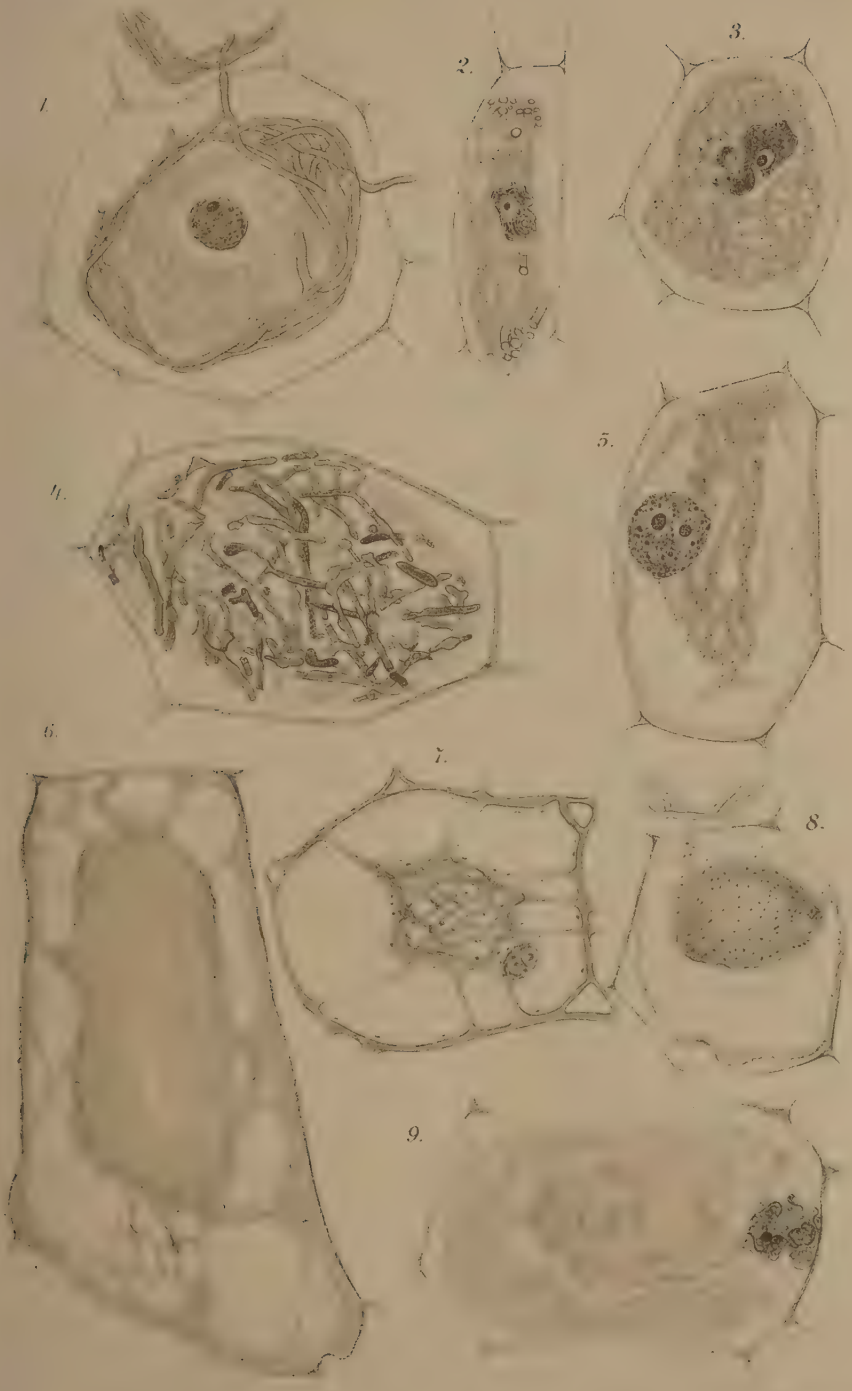
10. *Neottia*. Pilzwirthzelle. Ringhyphe, rings aussprossend. Z. I. C. O. 12 (1000).
11. „ „ „ seitlich „ Z. I. C. O. 12 (1000).
12. „ „ Rindenhyphe in Entstehung. Z. I. C. O. 12 (1000).
13. 14, 15. *Neottia*. Pilzwirthzelle. Rindenhyphe, Querschnitte. Z. I. C. O. 12 (1000).
16. *Neottia*. Pilzwirthzelle. Rindenhyphe, fertig. Z. I. C. O. 12 (1000).
17. „ „ „ Querschnitt nach d. Leben. L. 1. L. O. I (570).
18. a, b, *Neottia*. Verdauungszelle. Eiweisshyphen. Z. I. C. O. 12 (1000).
19. *Neottia*. Verdauungszelle. Degenerirte Hyphen in den Vacuolenwänden. L. I. L. O. 3 (980).
20. *Orchis*. Verdauungszelle. Zerknitterte Hyphen im Klumpen. L. I. L. O. 3 (980).
21. *Neottia*. Wurzelquerschnitt. V = Verdauungszelle, P — Pilzwirthzelle. Z. A. Z. O. 2 (50).
22. *Orchis*. Pilzwirthzelle. L. I. L. O. 0 (540).
23. *Neottia*. Anderer parasitärer Pilz. Z. D. Z. O. 2 (240).

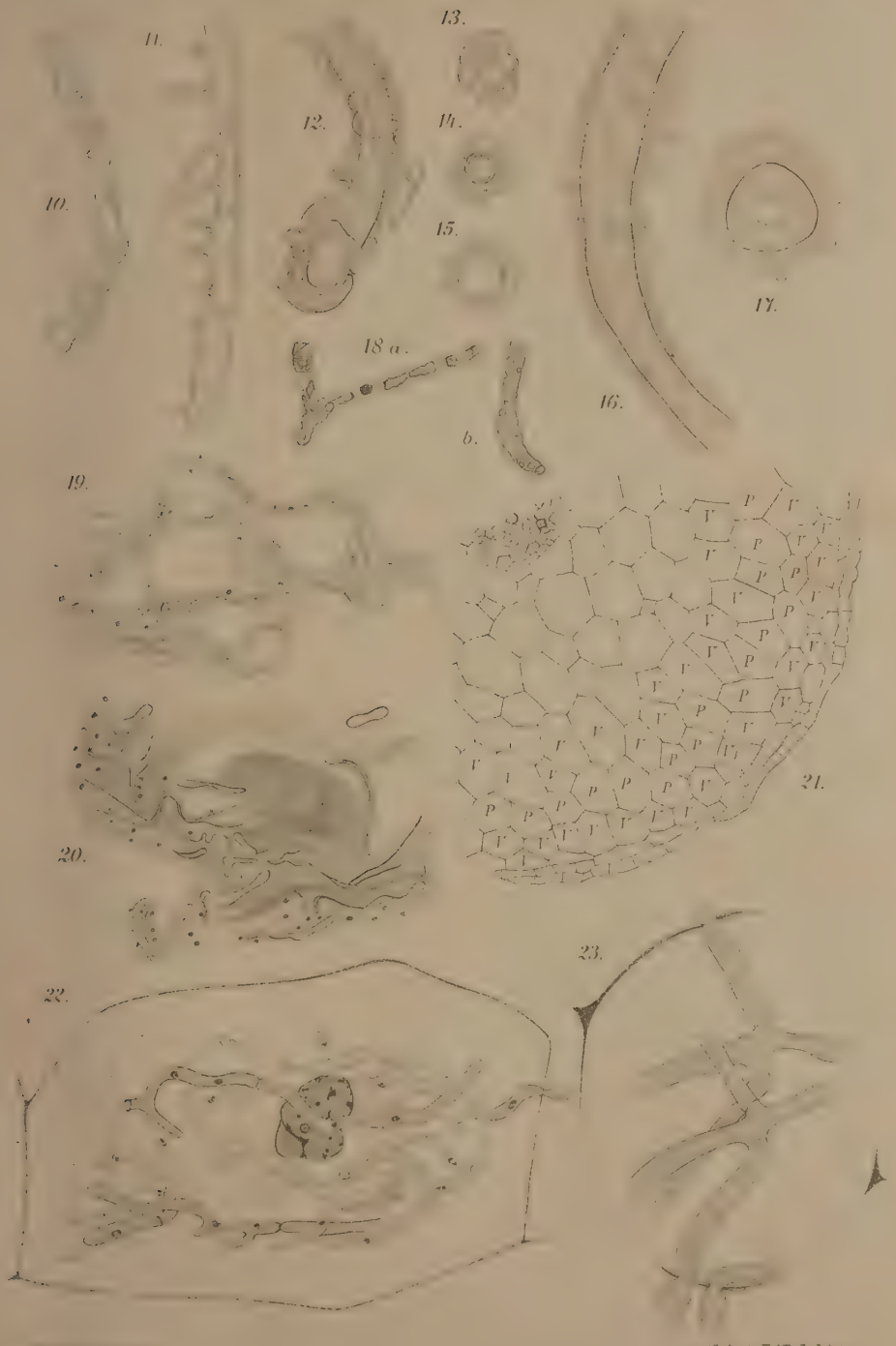
Tafel VI.

1., 2, *Neottia*. Ruhender Kern des Wurzelspitzenmeristem. Z. I. C. O. 12 (1000).
3. *Neottia*. Pilzmeristem. Beginn der Ansammlung. L. I L. O. 3 (980).
4. „ „ „ in dunklem Plasma. L. I. L. O. 3 (980).
5. „ „ Höhepunkt der Ansammlung. Z. I. C. O. 12 (1000).
6. „ „ „ nach dem Leben. Z. F. Z. O. 4 (1000).
7. „ „ „ Theilstück. Z. I. C. O. 18 (1500).
8. a, b, c, d, *Neottia*. Pilzmeristem. Regressiv. Lemniscaten und Bretzelformen. Z. D. Z. O. 4 (480).
9. *Neottia*. Verdauungszelle, jung. Beginn der Kern-Verzweigungen. Z. D. Z. O. 4 (420).
10. „ „ Amöboide Kernformen. Z. D. Z. O. 4 (420).
11. „ „ Feinverzweigte Kernformen. L. I. L. O. 3 (980).
12. „ „ Hyperchromatisch. Z. I. Z. O. 12 (1000).
13. „ „ während der Verdauung. Z. D. Z. O. 4 (420).
14. „ „ „ „ „ L. 7. L. O. 3 (525).
15., 16., 17., 18., 19., 20. *Neottia*. Verdauungszelle. Beziehungen zwischen Kern und Membranstoffbildung. Z. D. Z. O. 2 (240).
21. *Neottia*. Verdauungszelle. Kern umgiebt ringförmig den Klumpen. Z. D. Z. O. 4 (420).
22. *Neottia*. Pilzwirthzelle. Chromatinausscheidungen. Z. I. C. O. 12 (1000).
23., 24. *Neottia*. Pilzwirthzelle. K. von Hyphen eingeschnürt. Z. I. C. O. 8 (667).
25., 26. „ Verdauungszelle, zugleich vom anderen Parasiten befallen. Chromatolytische Erscheinungen. L. I. L. O. 1 (710).
27. *Neottia*. Alte innere Rindenzelle einer nicht inficirten Wurzel. Z. I. C. O. 12 (1000).
28. *Orchis maculata*. Wurzelspitzenmeristem, ruhender Kern. L. I. L. O. 4 (1220).
29. „ „ „ Vorbereitung zur Theilung. L. I. L. O. 4 (1220).
30. *Orchis maculata*. Wurzelspitzenmeristem, Prophase. L. I. L. O. 4 (1220).
31. „ „ inficirte Wurzel-Chromatinansammlung. L. I. L. O. 4 (1330).
32. „ „ „ unterhalb der Verdauungszellen. Z. D. Z. D. 4 (420).

33. *Orchis maculata.* Verdauungszelle: locale Klumpenbildung. L. I. L. O 0 (540).
34. „ „ „ Hyperchromatisch. L. I. L. O. 3 (980).
35. „ „ „ Amöboid. Z. D. Z. O. 4 (420).
36. „ „ Leitparenchym. Gelappte Kerne. L. I. L. O. 3 (980).
37. „ „ 1. Meristem (Knolle); 2. grösster Kern, Knolle; 3. grösster Kern, nicht inficirte Wurzel; 4. inficirte Wurzel, kurz nach dem Meristem; 5. „Pilzwirthzelle", ziemlich gross; 6. „Verdauungszelle".
38. *Listera ovata.* 1. Meristem; 2. nicht inficirte Wurzel: supepidernale Schicht; 3. innere Rindenschicht; 4. inficirte Wurzel: „Pilzwirthzelle"; 5. Verdauungszelle (nicht anormal grosser Fall).
39. *Listera ovata.* Verdauungszelle. Z. D. Z. O. 4 (420).
40. „ „ „ Hyperchromatisch. L. I. L. O. 3 (980).
41. „ „ „ Doppelnucleolen. Z. D. Z. O. 4 (420).
42. „ „ „ Osmium reducirende Einschlüsse. Z. D. Z. O. 4 (420).
43. *Aecidium leucospermum* auf *Anemone nemorosa.* Z. I. C. O. 12 (1000).
44. *Roestelia cancellata* auf *Sorbus aucuparia.* Z. I. C. O. 8 (667).
45. *Puccinia Xanthii* auf Xanthium. Z. D. Z. O. 4 (420).
46. „ „ „ „ Krampfadrige Anschwellung am Kern. Z. D. Z. O. 4 (420).
47. *Neottia.* Epidermiszelle der Wurzel mit Cellulosezäpfchen: a) in der Entstehung, b) fertig. Z. D. Z. O. 4 (420).

Druck von E. Buchbinder in Neu-Ruppin.

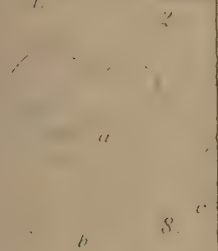

1.
2.
3.
4.
5.
6.
7.
8.
9.



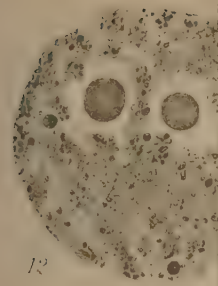
Lith. Anst. v. E. A. Funke Leipzig.

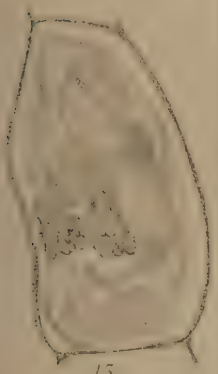
1.

2.


a b c

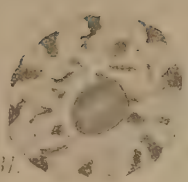
8.

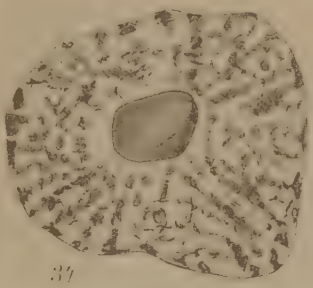

12.


15.

18.

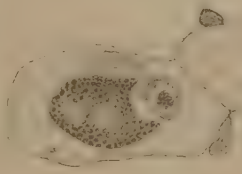
30.

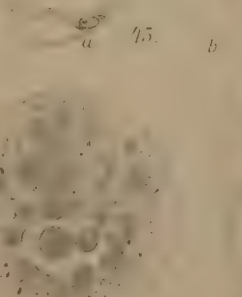

31.

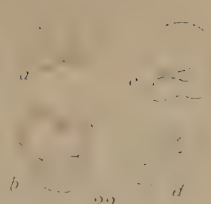

37.

41.

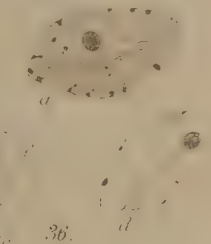
39.


43.

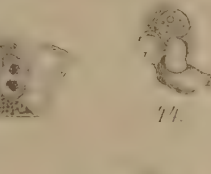

26.


a b c d
32.

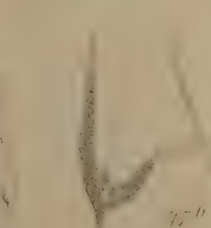
35


a b c d
36.

42.


44.

46


47a 47b

Mauss, Wiss. Mitt. 1902

ESTRATTO DALLA MALPIGHIA, ANNO I, FASC. VIII-IX

Sul parassitismo dei Tartufi e sulla quistione delle Mycorhizæ

Ricerche del D.r O. Mattirolo.

(Tav. X.)

Dai tempi antichi ai giorni nostri, furono sempre oggetto di discussioni passionate le opinioni, in parte stranissime, e le ricerche intese ad accertare la natura ed i rapporti di origine e di sviluppo delle Tuberacee propriamente dette.

Oggi finalmente dopo i lavori di M. Boudier (1), G. Gibelli (2), M. Reess (3), B. Frank (4), P. E. Müller (5), la questione, dal campo

---

(1) M. Boudier, *Du parasitisme probable de quelques espèces du genre Elaphomyces*. — *Bull. Soc. Bot. de France*, vol. XXIII, pag. 115, 1876.

(2) G. Gibelli, *La malattia del Castagno*. Osservazioni ed esperienze 1875-79. *Boll. Comizio Agrario di Modena*, 1879.

Id. *Nuovi studii sulla malattia del Castagno detta dell' Inchiostro*. — *Memorie dell'Acc. delle Scienze di Bologna*. Tom. IV, Serie IV, 1883.

(3) M. Reess, *Ueber den Parasitismus von Elaphomyces granulatus*. — *Sitz. phy. med. Ges. zu Erlangen*, 10 Maggio 1880.

Id. *Ueber Elaphomyces und sonstige Wurzelpilze*. — *Bericht. d. deut. bot. Gesell.*, 1885. Vol. III, Heft. 7.

Id. *Weitere Mittheilungen uber Elaphomyces granulatus*. — *Bericht. d. deut. bot. Gesell.*, 1885. Vol. III, Heft. 11.

(4) B. Frank, *Ueber die auf Wurzelsymbiose beruhende Ernährung gewisser Bäume durch unterirdische Pilze*. — *Berich. d. deut. bot. Gesell.* Vol. III, Heft. 4.

Id. *Ueber die Mycorhiza der Bäume*. — *Forstliche Blätter*. Heft. 5, 1886 Berlin. (non consultato).

(5) P. E. Müller, *Bemerkungen über die Mycorhiza der Buche*. — *Bot. Centrall.* N. 14, 1886, pag. 22.

Id. *Studier over Skovjord* ecc. (non consultato). — *Tidsskift vor Skovbrug*. Bd. III, 1878. A questi si aggiungono i lavori di Kamienski e di Grosglik conosciuti per referati.

delle ipotesi gratuite, pare finalmente portata in quello dei fatti accertati da positive osservazioni, ma è ben lungi ancora dall'essere risolta, attese le difficoltà gravissime che mantengono avvolte nel velo del mistero la biologia di questi esseri originali. In questa condizione di cose, ogni nuovo fatto accertato deve avere importanza e deve essere preso in considerazione, se si vuole giungere a stabilire un piano di ricerca che possa condurre alla soluzione del difficile problema.

Epperò, quantunque per deficienza di adatti materiali, estremamente difficili a procurarsi nelle volute condizioni (1), io non abbia potuto seguire la evoluzione completa del fatto che forma argomento di questa nota, tuttavia reputo non privo di interesse un cenno sopra una serie di osservazioni [che ho speranza di poter completare] le quali mi permettono già fin d'ora di assicurare: *come alcune Tuberacee stanno in intima dipendenza, provengono cioè da speciali micelii rizomorfici* (2), *esattamente paragonabili a quelli conosciuti* (3) *parassiti delle radici di molte piante;* noti ai botanici specialmente per i lavori di G. Gibelli, Reess, Müller, indicati oggi col nome di *Mycorhizæ* dato loro dal Frank.

Non ho ancora potuto esattamente seguire sotto al microscopio i filamenti in tutto il tragitto dalla radice al Tuber, essendo essi estremamente fragili, poichè già fradici nei Tartufi maturi (4); ma pure avendo stabilito: da una parte la dipendenza dei fasci rizomorfici col tessuto del *Tuber,* e d'altra parte avendo pure accertata la continuità di questi stessi fasci (decorrenti in ogni senso nel terreno circostante al Peridio) coi micelii periradicali, e per conseguenza colle radici che stanno in vicinanza al *Tuber,* e riscontrata

(1) Specialmente nella stagione invernale, quando i Tartufi sono maturi.

(2) Dei quali rappresentano gli organi riproduttori.

(3) Noto qui subito, a scanso di ripetizione, che le figure di questi micelii date dal Gibelli, dal Frank, dal Müller sono identiche a quelle da me osservate.

(4) I soli che mi fu concesso esaminare, perchè appena nel periodo di maturanza possono essere avvertiti dai cani ammaestrati.

quindi indubbiamente la loro reciproca identità, mi credo autorizzato alla proposizione sopraccennata.

Naturalmente con questo, dopo quanto si sa oggi sulle rizomorfe (appartenenti a funghi diversissimi) io non intendo menomamente affermare che tutte indistintamente le Mycorhizæ debbano avere corpi riproduttori analoghi a quelli del genere *Tuber*; che esse, date condizioni speciali, non possano vivere senza sviluppare corpi riproduttori; nè voglio qui entrare in merito alla recente quistione della *simbiosi* di Frank; a me basta accentuare il fatto osservato, che cioè il micelio rizomorfico proveniente da alcuni *Tuber* sta in diretta relazione con micelii parassiti di alcune radici.

Così il parassitismo dimostrato da Boudier e da Reess per il vicino genere *Elaphomyces*, e in modo puramente teorico già ammesso da secoli dai coltivatori e dai botanici per le Tuberacee vere, sarebbe dimostrato, senza tema di arrischiate induzioni, anche per le specie del genere *Tuber*.

Premesse queste considerazioni, ecco intanto la descrizione dei fatti osservati:

I.

È conosciuta come caratteristica proprietà del *Tuber excavatum* Vittadini, a cui dà il nome, una caverna centrale, formata da una depressione del peridio che si ripiega in dentro, più o meno ampia e regolare, la quale sta in comunicazione coll'esterno per mezzo di una apertura facilmente visibile, che mette in una insenatura imbutiforme del Peridio.

In questa escavazione anfrattuosa (1) che riconobbi pure carat-

(1) Stupendamente riprodotta nella Tavola VI, annessa alla classica opera del Tulasne « *Fungi Hypogei* » e nella Tavola I, fig. VII della eccellente « *Monographia Tuberacearum* » del nostro Vittadini.

teristica di una nuova specie di Tuberacee, il *Tuber lapideum* nov. sp. (1) affine al *T. excavatum* Vittadini, ho osservato (specialmente distinta nel *T. lapideum*) invece dell' indumento lanoso ricordato dal Tulasne, numerosi filamenti neri, visibili già ad occhio nudo, i quali l' attraversavano in ogni senso, e che, esaminati al microscopio apparvero formati da filamenti micelici bruni diritti o leggermente flessuosi, riuniti per la loro lunghezza in fasci come quelli che costituiscono i fasci rizomorfici comuni in molti generi di Funghi (2). (Tav. X, fig. 4-6).

Le ife componenti detti fasci, hanno colore brunastro se isolate, mentre assieme riunite, danno al fascio la colorazione nera caratteristica. I filamenti presentano frequenti divisioni, sulle quali si osservano le così dette *unioni a fibbia* (Schnallenverbindungen). La comunicazione fra le due cellule contigue attraverso all' ansa della fibbia è aperta nel maggior numero dei casi, chiusa invece nei modi descritti, in un numero relativamente minore di dette unioni (V. Tav. X, fig. 1, 2, 3).

Le osservazioni condotte in modo speciale sopra i filamenti rizomorfici meno sviluppati, lasciano riconoscere con facilità tutti gli stadii successivi di formazione, che appaiono analoghi a quelli già descritti dal Brefeld. (3).

Osservo però qui di passaggio che in alcuni filamenti e specialmente in quelli aventi maggiori dimensioni, ricoperti da granulazioni minute di ossalato di calce, la formazione di dette fibbie sembra aver luogo un po' diversamente dalla maniera descritta, perchè la comunicazione intercellulare pare attuarsi per un semplice distacco di quel tratto di parete (Tav. X, fig. 1), che sta di fronte al sipario

---

(1) Di questa specie raccolta in territorio di Alba (Piemonte) nel gennaio 1887 favoritami dal sig. Saverio Belli, assistente al R. Orto Botanico di Torino, e di altre nuove specie italiane, pubblicherò fra breve una descrizione illustrata.

(2) A. De Bary, *Vergleich. Morph. und. Biol. der Pilze.* 1884, pag. 30.

(3) Brefeld, *Bot. Untersuch. ub. Schimmelpilze.* Heft. III, 1877.

divisorio (1). Non avendo però seguito la evoluzione di queste unioni a fibbia, mi limito ad accennare il fatto il quale confermerebbe il dubbio già espresso al riguardo dal De Bary. (2).

Comunque possa essere, per noi importa rilevare come carattere costante di questi fasci rizomorfici (carattere già osservato da Müller e Gibelli), la presenza delle « Schnallenverbindungen » le quali, mentre generalmente sono ritenute proprie ai micelii dei Basidiomiceti, sarebbero invece in questo caso caratteristiche di un micelio appartenente ad un Ascomicete tipico.

Dalle Rizomorfe partono lateralmente numerose ramificazioni che formano un capillizio abbondante nell'accennata cavità, e nel terreno circostante al peridio, come osservai in alcune Tuberacee (*T. excavatum* Vitt., *lapideum* Mattirolo, *Borchii* Vitt.).

Stabilita così la natura di questi fasci e fili rizomorfici, si trattava di determinare in quale relazione si trovassero per rapporto al tessuto del *Tuber* nella cavità del quale si osservano.

A questo fine esercitando dapprima delicatamente un movimento di trazione sopra uno dei fasci più sviluppati, mi avvidi che dovea essere in diretta comunicazione col tessuto del *Tuber;* perocchè assieme tutta una porzione del peridio si poteva agevolmente sollevare.

Stabilita così macroscopicamente la reciproca relazione, passai all'esame microscopico, il quale mi confermò la perfetta continuità di queste due formazioni.

I filamenti rizomorfici, o se si vogliono così chiamare, le Micorhize, provengono indubbiamente dallo pseudoparenchima del peridio in numero grandissimo, e nei Tuber relativamente giovani esaminati, (*T. excavatum*, Vitt.) (3), formano dapprima tutto attorno

---

(1) In questi casi infatti non è possibile osservare traccie delle pareti divisorie minori che si dovrebbero come nelle altre riconoscere.

(2) De Bary, *loc. cit.*, pag. 3. Le figure di Müller, *loc. cit.* che rappresentano Mycorhize di Faggio confermerebbero la mia osservazione essendo identiche a quelle da me osservate.

(3) Di questa specie disponevo di numerosi esemplari.

al peridio da cui provengono un rivestimento micelico filamentoso, che si continua poi coi fasci rizomorfici. (V. Tav. X, fig. 7).

I fili che si trovano in contatto immediato del peridio, mantengono (nei giovani esemplari) ancora i caratteri dei comuni filamenti micelici trasparenti, ma appena riuniti in fasci, assumono quelli conosciuti proprii ai fili rizomorfici.

Questa caratteristica continuazione si osserva solo in giovani esemplari, mentre in quelli perfettamente maturi la continuazione è più difficile ad osservarsi, poichè i filamenti del rivestimento peridiale, come nelle rizomorfe, avendo subito trasformazioni ulteriori divengono fragili, e si staccano con somma facilità.

Ragione per cui, spappolandosi poi nel terreno, sono esportati con esso, o vi si perdono assai facilmente, lasciando l'osservatore in presenza di una superficie peridiale liscia, la quale formò appunto il principale ostacolo allo studio dei rapporti di questi funghi.

Aggiungo ancora che i filamenti, i quali avvolgono il peridio, quando non sono ancora riuniti in fasci, presentano curvature caratteristiche (*Borchii* Vitt., *excavatum* Vitt., *lapideum* Mattirolo) trasparenti dapprima, diventano più tardi anch'essi brunastri (V. Tavola X, fig. 5).

Riassumendo: dimostrano le precedenti osservazioni che le *Rizomorfe* o come dir si voglia le *Mycorhize* (*T. excavatum* Vitt., *lapideum* Matt.) *stanno in diretta continuazione col tessuto del corpo riproduttore del* Tuber *e che da questo si espandono in ogni direzione del terreno circostante.*

II.

Stabilita così la relazione fra le Mycorhize ed il corpo riproduttore, si trattava in seguito di riconoscere l'origine e le eventuali relazioni di questo apparato vegetativo. Come ho già accennato, disponevo in questo inverno di materiali poco adatti, non raccolti

da me direttamente, ma ricevuti da volgari cercatori di Tartufi, i quali malgrado le mie proteste, si vantavano di fornirmi materiale accuratamente pulito e lavato, quale assolutamente non potevo usufruire nelle presenti ricerche; pure casualmente ebbi alcuni Tartufi (*T. Borchii* Vitt.) ancora avvolti da densi strati terrosi, nei quali si trovavano impigliate numerose radici, la cui diretta provenienza non mi fu possibile stabilire, quantunque la disposizione degli elementi ed i preparati di confronto potessero lasciar supporre dovessero esse appartenere a piante Cupulifere.

Esaminate queste radici coperte di Mycorhize, sopra di esse nei rapporti indicati da Gibelli e da Franke, senza alcuna difficoltà, osservai numerosi filamenti rizomorfici analoghi perfettamente a quelli che avevo veduto provenire dal tessuto del *Tuber*, muniti essi pure di unioni a fibbia *(Schnallenverbindungen)*. Questi filamenti, nei modi ricordati da Gibelli e da Frank, davano origine a numerose rizomorfe anch'esse identiche a quelle che avevo veduto provenire dai Tuber, tanto che era in modo assoluto impossibile distinguerle dalle prime; e dippiù nel terreno che stava applicato al peridio, osservai nuovamente numerose le rizomorfe ed i filamenti, notati sempre dalle caratteristiche proprietà sopra segnate.

Ricordo ancora, come oltre alle radici munite di rizomorfe, ne incontrai pure altre, le quali dalle prime assai diverse per colore e per forma, stavano in vicinanza al Tartufo, ma erano libere assolutamente da micelii, e mantenevano inalterati i loro apici vegetativi.

Nel terreno poi si potevano distinguere i fasci rizomorfici quasi tutti ridotti a frustoli, e si riscontravano sulle ife le curvature caratteristiche che avevo riscontrato nei filamenti che componevano il rivestimento micelio nei *T. excavatum* Vitt. e *lapideum* Matt.

Queste, brevemente riassunte, sono le osservazioni che ho potuto fare nel volgere di questi mesi invernali [1]. *Ho osservato la con-*

---

[1] Epoca poco adatta a questo genere di ricerche, essendo gli esemplari già maturi. Spero però di poter fare nuove osservazioni in estate, quando i Tartufi

tinuità delle Rizomorfe col tessuto del Tartufo, e d'altra parte mi sono assicurato della continuità delle stesse Rizomorfe coi micelii parassiti delle radici; mi credo quindi autorizzato a ritenere come continue queste due produzioni identiche, e quindi ad ammettere ragionevolmente il parassitismo delle specie esaminate.

La capitale obbiezione fatta specialmente dal Chatin (*La Truffe*, Paris 1869, pag. 30 e 31) alla teoria del parassitismo dei Tartufi, che cioè questi ascomiceti non sieno mai stati osservati in una diretta continuità colle radici, cade pure col fatto osservato, che i Tartufi non si sviluppano già direttamente dalle radici, ma sono in dipendenza delle rizomorfe, le quali a loro volta sviluppandosi sulle radici, da queste si espandono nel suolo circostante dove trovano condizioni adatte allo sviluppo del corpo fruttifero.

III.

Non è qui assolutamente il caso di discutere le varie opinioni dei cercatori di Tartufi, accuratamente raccolte da Tulasne e Chatin; e senza entrare in particolari (confermati da una pratica secolare) noti a tutti i coltivatori, sulle relazioni che esistono tra lo sviluppo, il taglio, la mancanza di certe piante determinate, e la relativa presenza o mancanza di Tartufi tra le radici; senza parlare insomma di quelle pratiche empiriche, le quali ora regolano il piantamento e la coltivazione delle piante a radici tartufifere, pratiche tutte che evidentemente in un modo ovvio e razionale si spiegherebbero ammettendo il parassitismo dei Tartufi, mi faccio ancora lecito accennare in appoggio a queste ricerche oltre i lavori già ricordati di Boudier e di Reess, dai quali è confermato un consimile parassitismo

---

nei luoghi segnalati in quest'anno, non abbiano ancora raggiunto il loro completo sviluppo, e per conseguenza sieno le rizomorfe ancora saldamente attaccate al peridio.

nel vicino genere *Elaphomyces*, anche i fatti recentemente osservati dal Frank [1], al quale unitamente a Gibelli dobbiamo le notizie scientifiche di maggiore importanza sopra le manifestazioni miceliari ipogee.

Il Frank (incaricato dal Ministro di fare studii sulla possibile coltivazione dei Tartufi in Germania) persuaso dopo i lavori di Reess che le Tuberacee dovessero vivere quali parassite delle radici, osservava già solo incidentalmente [2] molti dei fatti che ho potuto constatare:

1° Che le Rizomorfe provenienti dai micelii radicali, si svolgono molto più numerose nei punti in cui si trova un Tartufo, formando ivi un sistema di fasci riccamente anastomizzati di cui facilmente si riesce a stabilire la continuità colle radici delle Cupulifere (*loc. cit.* pag. 130-131, fig. 7).

2° Straordinariamente numerose si osservano le Mycorhize in quei punti del terreno dove si sviluppano Tartufi, cosicchè i Tartufi maturi si trovano rinchiusi dentro un intreccio serrato di Micorhize (pag. 135).

3° Anche la rigorosa dipendenza tra la presenza dei corpi fruttiferi dei Tartufi e la presenza di piante viventi, è un fatto che si deve accentuare (pag. 144).

4° Le Mycorhize che si incontrano in una regione in cui mancano i Tartufi, non si possono differenziare da quelle che si osservano nelle regioni in cui si incontrano, solamente quivi tanto le Mycorhize, quanto i micelii da esse provenienti, si osservano in maggiore quantità (pag. 141).

Colla conferma di questi fatti io non intendo però ammettere, senza prove ulteriori, la identità fra tutte le Mycorhize delle cupu-

---

[1] FRANK, *loc. cit.*

[2] Come è noto il Frank nel suo lavoro si occupa essenzialmente della relazione di Simbiosi, che secondo il suo modo di vedere, si stabilisce fra le Mycorhize e le radici delle Cupulifere.

lifere e di molte altre piante, ed i micelii rizomorfici osservati nelle Tuberacee, essendo io convinto della assoluta impossibilità in cui ci troviamo per ora di stabilire caratteri diagnostici, e differenze sicure fondandosi sulle proprietà morfologiche dei micelii.

Ma d'altra parte non si deve credere che i micelii debbano sempre e necessariamente fruttificare, perchè, mancando date condizioni è noto pure come molti micelii possano vegetare senza fruttificare.

Per ora limitiamoci a segnare unicamente il fatto che *alcune rizomorfe parassite delle radici perfettamente simili a quelli indicate dal Frank, col nome di Mycorhize, danno, in condizioni non ancora definite, origine a corpi riproduttori o Tartufi (T. excavatum* Vitt., *lapideum* Matt.

Alle future osservazioni lascieremo la risposta ai numerosi quesiti che naturalmente ancora si parano dinnanzi. Il campo di ricerca è vasto, e una ricca messe di nuovi fatti non deve tardare certamente ad essere raccolta.

In conclusione, pure riconoscendo le numerose lacune [1], inevitabili in queste prime ricerche, io mi sono deciso a farle di publica ragione, onde eccitare i botanici allo studio biologico delle Tuberacee le quali vanno tuttodì acquistando coi metodi di coltura [2], già introdotti specialmente in Francia, una importanza economica veramente enorme, quale risulta dalle statistiche ufficiali [3].

Necessariamente la conoscenza del parassitismo che lega i Tartufi alle piante, *esclude la possibilità di una vagheggiata coltura indipendente,* ma potrà servire a dettare norme razionali che regolino il piantamento delle Tartufaie, dalle quali certamente il paese ricaverà sempre un duplice vantaggio, ottenendosi colla raccolta del

(1) Specialmente per quanto ha rapporto alla determinazione delle radici.

(2) Piantamenti ordinati di Quercie a radici tartufifere.

(3) Secondo i dati forniti dal Chatin, il valore dei Tartufi raccolti *in media annualmente* nella Francia (1869!) rappresentava già una somma di L. 15,881,000!

prezioso ascomicete, anche la ricchezza concessa da un utilissimo rimboschimento di molte plaghe improduttive, quale da molti anni si è verificato in alcune provincie francesi.

R. Orto Botanico di Torino, gennaio 1887.

SPIEGAZIONE DELLA TAVOLA

Fig. 1. Unioni a fibbia, Schnallenverbindungen (*T. excavatum*, Vitt.) *a* ramificazione miceliare; *b* filamento semplice, (ingrand. circa 400).

Fig. 2. Id. *T. lapideum*, Mattirolo (ingrand. circa 500).

Fig 3. id. in stadii diversi. (*T. excavatum* e *lapideum* ingrand. circa 400).

Fig. 4. Fasci miceliari rizomorfici (Mycorhize) del *Tuber lapideum*, Mattirolo (ingrand. circa 40).

Fig 5. Particolari di una rizomorfa del *T. lapideum*. (N.B. identica figura rappresenterebbe i particolari delle rizomorfe del *T. excavatum* ingrand. circa 150).

Fig. 6. Filamenti rizomorfici undulati addossati al peridio nella cavità dei *T. excavatum* e *lapideum* (ingrand. circa 400).

Fig. 7. Tessuto peridiale pseudoparenchimatoso di un *Tuber excavatum*, Vitt., dal quale hanno origine, il rivestimento micelico filamentoso ed i fascii rizomorfici. R. Rizomorfe (ing. circa 400).

Messina, 1887 — Gaetano Capra e C.°, Editori.

Fig. 1

Fig. 2

Fig. 3

R

Fig. 7

Fig. 4

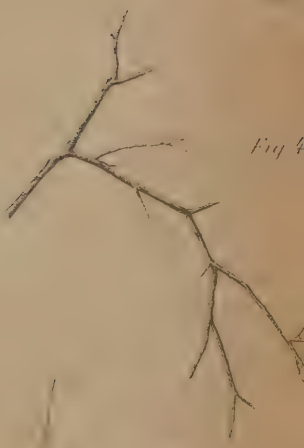


Fig. 6

Fig. 5

E. Kulter

Anatomisch-Biologischer Beitrag zur Mykorrhizenfrage.

INAUGURAL-DISSERTATION

ZUR

ERLANGUNG DER DOKTORWÜRDE

DER

HOHEN PHILOSOPHISCHEN FAKULTÄT

DER

UNIVERSITÄT JENA

VORGELEGT

VON

MAX MARCUSE

AUS STASSFURT.

DESSAU.
H. FRANKE, BUCHDRUCKEREI UND VERLAG.
1902.

Genehmigt von der philosophischen Fakultät der Universität Jena auf Antrag des Herrn Professor Dr. Stahl.

Jena, den 2. August 1902.

Professor Dr. Michels

d. Z. Dekan.

Seiner lieben Mutter

als Zeichen der Dankbarkeit

gewidmet

vom

Verfasser.

Einleitung.

Der Inhalt der vorliegenden Arbeit schliesst sich an die jüngsten Untersuchungen über die Mykorrhizenfrage an und hat zur hauptsächlichen Aufgabe, die Richtigkeit der Stahl'schen*) Ansicht über den Sinn der Mykorrhizenbildung an der Hand vergleichender anatomischer Untersuchungen zu prüfen. Stahl sieht in der Erschwerung der Nährsalzgewinnung, in dem Kampfe um die Nährsalze, die primäre Ursache dieser so eigenartigen Symbiose, die zunächst, vom phylogenetischen Gesichtspunkt aus betrachtet, nur in ihrer Ernährung selbständige Pflanzen betraf. Die Stahl'sche Erklärung der Ursache der Mykorrhiza „geringe Transpirationsgrösse und damit verbundener erschwerter Erwerb der anorganischen Nährstoffe" gilt natürlich für alle Mykorrhizenpflanzen, Holo- wie Hemisaprophyten. Unterstützung in der Nährsalzgewinnung durch den Pilz kommt nach Stahl nicht etwa nur den grünen Mykorrhizenpflanzen zu Gute; nach seiner Auffassung über die Bedeutung der Wurzelpilze liegt kein Grund vor, diese Thätigkeit des Pilzes – Erwerb der für die Gefässpflanze notwendigen Nährsalze bezw. der aus ihnen hergestellten organischen Verbindungen – für die Holosaprophyten zu negieren, wenn man sie für hemisaprophytische Pflanzen in Betracht zieht. Dass dieser Punkt in gewisser Beziehung noch der Klärung bedarf, lehrt folgende Stelle aus Noll's Physiologie in der

*) Stahl, der Sinn der Mykorrhizenbildung. Jahrbücher für wissenschaftl. Botanik, Bd. XXXIV, Heft 4.

fünften Auflage des Strassburger'schen Lehrbuches pag. 177:

„Stahl erblickt die Bedeutung der Mykorrhiza in der besseren Zufuhr der Bodensalze, womit freilich nur den grünen Pflanzen gedient sein könnte.“ Wohl unterscheiden sich die holosaprophytischen mykotrophen Pflanzen von den hemisaprophytischen dadurch, dass sie der Unterstützung durch den Pilz nicht nur in Bezug auf Erwerb der mineralischen Nährstoffe, sondern auch auf die Herbeischaffung der bei den hemisaprophytischen Pflanzen durch die Thätigkeit des Chlorophylls gebildeten Kohlehydrate bedürfen, wenn man nicht, wie Werner Magnus*) für Neottia annimmt, der Ansicht zuneigt, dass die chlorophyllarmen Pflanzen selbständig die organischen Verbindungen aus dem umgebenden Humus entnehmen. In Anbetracht, dass über diese fundamentalen Fragen noch Unklarheit herrscht, dürfte es wohl überflüssig erscheinen, die verschiedenen Möglichkeiten zu erörtern, umsomehr aber ist es am Platze, die Beziehungen zwischen den endotroph lebenden Pilzen zu den im umgebenden Substrat verlaufenden Pilzfäden sowie zu den plasmatischen Bestandteilen der pilzbewohnten Zellen möglichst genau nach verschiedenen Richtungen hin zu studieren.

In seiner wichtigen Arbeit „Über die Verbreitung und Bedeutung der endotrophen Mykorrhiza“ erwähnt Schlicht,**) dass bei den von ihm untersuchten Pflanzen die im Innern der betreffenden Wurzeln befindlichen Pilzmassen durch eine grosse Anzahl Hyphen reichlich mit den im Substrat verlaufenden Pilzmycelien kommunizieren. Diese Thatsache ist meines Erachtens für die biologische Bedeutung der endo-

*) Werner Magnus. Studien an der endotrophen Mykorrhiza von Neottia Nidus avis. Jahrbücher für wissenschaftl. Botanik. Bd. XXXV, Heft 2

**) Landwirtschaftl. Jahrbücher von Thiel, Bd. XVIII, Heft 4.

trophen Mykorrhiza von grosser Wichtigkeit; es musste mir daher auffallen, dass gerade bei derjenigen Gruppe von Pflanzen, bei der endotrophe Mykorrhizen am längsten bekannt sind, nämlich bei den Orchideen, nach Frank*) der Pilz nur mit wenigen Fäden an die Wurzeloberfläche reicht. Die Bedeutung der ectotrophen Mykorrhiza beruht nach Frank auf absorbierenden und assimilierenden Funktionen der gleichsam die Wurzelhaare ersetzenden Hyphen. Bei der endotrophen Mykorrhiza kommt nach der Auffassung des genannten Forschers der Pilz bei der Nahrungsaufnahme nicht so ausschliesslich in Betracht wie bei der ectotrophen, denn die nach seinen Untersuchungen nur geringe Zahl der ausstrahlenden Pilzfäden spricht für die Wahrscheinlichkeit, dass auch die Wurzeloberfläche an der Aufnahme der gelösten organischen und anorganischen Stoffe beteiligt ist. Diese Betrachtungen führten Frank dazu, den beiden verschiedenen Formen der Mykorrhiza auch einen verschiedenen biologischen Charakter zuzuschreiben (pag. 260, s. Lehrbuchs).

In Uebereinstimmung mit Frank haben einige andere Autoren, unter anderen Janse**), zwar eine Kommunikation des im Innern der Wurzel lebenden Pilzmyceliums mit Aussenmycelien bemerkt, jedoch dieselbe in den meisten Fällen als eine äusserst spärliche hingestellt. Wenn aber der endophytische Pilz die Ausnutzung des Substrats vermitteln soll, so muss er mit den im Substrat verlaufenden Pilzfäden in Verbindung stehen. Diese Verbindung braucht natürlich nicht kontinuierlich die ganze Vegetationsperiode hindurch zu bestehen; es ist auch nicht notwendig, dass

*) Frank. Lehrbuch der Botanik. Bd. I, pag. 260.

**) Janse. Les endophytes radicaux de quelques plantes javanaises. — Extrait des Annales du Jardin Botanique de Buitenzorg Vol. XIV 1896, pag. 190: Les communications entre les hyphes libres et les hyphes engagées dans les tissus sont difficiles et insuffisantes.

sie an allen Teilen einer völlig pilzdurchsetzten Wurzel, bezw. eines Rhizoms stattfindet — der Zustand der Kommunikation kann zeitlich und örtlich beschränkt sein — auch braucht meiner Ansicht nach die Zahl dieser Verbindungen mit Notwendigkeit gar keine allzugrosse zu sein, denn die höchste Wahrscheinlichkeit spricht dafür, dass der austretende Pilz in dem umgebenden Humus zu einem umfangreichen Mycelium heranwächst.

In einem von modernden, abgestorbenen vegetabilischen und animalischen Resten durchsetzten Boden sind ja die denkbar günstigsten Bedingungen für eine gute Ernährung des Pilzes gegeben; jedoch ist zu erwägen, dass dieselben nicht zu allen Jahreszeiten gleich günstig sind, denn im Herbst, wenn sowohl durch Laubfall als durch unterirdische absterbende Pflanzenteile der Boden reichlich mit organischer Substanz gedüngt wird, haben wir ganz andere Verhältnisse wie im Hochsommer. Dieser Unterschied in den Vegetationsbedingungen wird sich direkt geltend machen auf die im Boden wuchernden Pilzmycelien und indirekt daher auf die Mykorrhiza. So ist es leicht einzusehen, dass das Bild, welches uns die Mykorrhiza in den verschiedenen Jahreszeiten bietet, ein, wenn auch nur in geringen Grenzen, wechselndes ist. Es soll hiermit aber gar nicht gesagt sein, dass nicht noch andere Umstände, von denen wohl vor allem auch noch die physikalische und chemische Beschaffenheit des betreffenden Substrates in Betracht zu ziehen ist, von Wichtigkeit für die qualitative und quantitative Ausbildung der Pilzwurzel sein können.

Wenn auch bei der endotrophen Mykorrhiza der Pilz zum grossen Teil im Verlauf der Vegetationsperiode durch das Plasma der Wirtspflanze getötet wird, und gerade durch diesen Vorgang die letztere sich auf Kosten des Pilzes einer reichlichen Menge plastischer, organischer Substanz bemächtigt, so ist diese Thatsache, welche Frank dazu bestimmte, die mit endotropher Mykorrhiza versehenen Pflanzen

als eiweissverdauende zu bezeichnen und in diesem Falle die Symbiose als „ein ganz neues, ganz eigenartiges Verhältnis“ hinzustellen, meines Erachtens nach nicht hinreichend, um die von Stahl vor der Hand angenommene einheitliche Auffassung des Mykorrhizenproblems aufzugeben. Ehe hierüber eine Entscheidung getroffen werden kann, bedarf es noch zahlreicher Untersuchungen, zu denen die vorliegende Schrift einen kleinen Beitrag liefern soll. — Dieselbe wurde ausgeführt im botanischen Laboratorium der Universität Jena; es sei mir an dieser Stelle gestattet, meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. Stahl für die von ihm durch vielfache, anregende Mitteilungen empfangene Förderung dieser Arbeit meinen wärmsten Dank auszusprechen.

I. Untersuchungen an endotrophen Mykorrhizen holosaprophytischer Orchideen.

Epipogon Gmelini Rich.

Von den einheimischen endotrophen Mykorrhizenpflanzen ist Epipogon Gmelini Rich. diejenige, bei welcher im Zusammenhang mit der Pilzsymbiose die am weitest gehende Reduktion der Ernährungsorgane eingetreten ist. So ist hier das Chlorophyll völlig verschwunden, während bei Corallorhiza und Neottia, den beiden anderen bekanntesten einheimischen Holosaprophyten, noch geringe Mengen desselben nachweisbar sind. Das Gefässbündel des Rhizoms*) ist bis auf einen Strang langgestreckter Cambiformzellen reduziert, dagegen ist die Kommunikation des im

*) Schacht. Beiträge zur Anatomie und Physiologie der Gewächse. Berlin 1854.

Innern des Rhizoms lebenden Pilzmyceliums mit den im Substrat verlaufenden Pilzfäden eine äusserst rege; dieselbe findet, wie sich aus der Untersuchung von in der Schweiz zur Blütezeit gesammeltem und in Alkohol aufbewahrtem Material ergeben hat, sowohl durch die Epidermiszellen, als auch durch die zerstreuten Haare der älteren Region des Rhizomes statt. Besonders die Verbindungen durch die Haare sind sehr reichlich, im Durchschnitt zählte ich vier bis fünf Pilzfäden in einem Haare. Die Hyphen durchlaufen meistens das betreffende Haar in seiner ganzen Länge und durchbrechen die Wandung desselben an der Spitze oder etwas unterhalb derselben. (Fig. 1.)

Infolge der häufigen Verzweigungen des Mycels, welches ebenso wie dasjenige im Rhizom von Corallorhiza mit den charakteristischen Schnallenbildungen reichlich versehen ist, gelingt es, die Frage zu entscheiden, ob die Kommunikationen derartige sind, dass der Pilz von der Wurzel in das Substrat oder umgekehrt verläuft. In den meisten Fällen konnte ich feststellen, dass der Pilz von der Wurzel in das Substrat austrat, indem nämlich eine aus der angrenzenden Parenchymlage in die Basis eines Haares eingedrungene Hyphe sich hier in centrifugaler Richtung verästelte. (Fig. 2.)

Auch spricht für ein derartiges Wachstum der Pilzhyphen die Lage der gebildeten Querwand in den Schnallenzellen. Es ist vielleicht hier angebracht, eine Stelle aus einer kürzlich von Arthur Meyer*) veröffentlichten Abhandlung bezüglich der Bildung der Schnallenbrücken anzugeben: „Ein kurzer, dicht oberhalb einer Zellwand stehender Zweig wendet sich nach unten und fusioniert dicht unter der gleichen Querwand mit der nächsten Zelle. Hierauf entsteht eine meist der oberen Zelle genäherte Querwand.“ Mit Berücksichtigung dieses letzteren Umstandes

*) Arthur Meyer. Die Plasmaverbindungen und die Fusionen der Pilze der Florideenreihe. Bot. Zeit Heft VII/VIII. 1902.

ist es ein leichtes, festzustellen, dass das Wachsen der Hyphen meistens von innen nach aussen, nicht umgekehrt, erfolgt. (Fig. 1 und 2.) Schacht meint in seinem oben citierten Werk, dass die Pilzfäden von den Wurzelhaaren und den übrigen Zellen der Oberhaut in das benachbarte Parenchym hinübergehen. Auf diese Weise erklärt er sich die Infektion des Rhizomes, wie sie ja auch aller Wahrscheinlichkeit nach stattfinden wird. Die erwähnte Verzweigung der Hyphen im Zusammenhang mit der Lage der gebildeten Querwand in den Schnallenzellen weist aber in den meisten Fällen auf ein Austreten des Pilzes von der Wurzel in das Substrat hin.

An dem Rhizom kann man, wie schon Schacht beobachtet hat, dem Alter und der Beschaffenheit nach drei Zonen unterscheiden. Die jüngste besteht nur aus wenigen Zelllagen, ihre Zellen sind dicht mit Plasma erfüllt und enthalten keine Stärke, auch der Pilz ist nicht vorhanden. Die darauf folgende Zone besteht aus etwas mehr Zelllagen, die Zellen enthalten reichlich Stärke, hauptsächlich die mehr nach der Mitte zu gelegenen, während nach beiden Flanken hin der Gehalt der Stärke in den Zellen gleichmässig abnimmt. Verpilzung ist im allgemeinen auch hier nicht bemerkbar. Erst in dem sich nun anschliessenden Teile des Rhizomes tritt der Pilz auf, hingegen fehlt die Stärke in dieser Region mit Ausnahme in den dem Cambiformbündel benachbarten sowie zuweilen in den an die Epidermis grenzenden Zellen. Querschnitte durch die ältere, äusserlich braun gefärbte Region eines Rhizomes lassen fast immer in den Zellen verschiedene Stadien der Pilzsymbiose erkennen; während in dem jüngeren Teile des Rhizomes besonders Hyphen enthaltende Zellen vorhanden sind, überwiegen im älteren die klumpenführenden. Im allgemeinen ist die gegenseitige Lage der freie Pilzhyphen enthaltenden und klumpenführenden Zellen in radialer Richtung die bei der Mykorrhiza

gewöhnliche: die nach der Epidermis zu gelegenen Zellen des Rindenparenchyms enthalten verschlungene, farblose, zarte Pilzfäden, während die weiter nach dem Centrum gelegenen mehr oder weniger stark desorganisierte Klumpengebilde führen. In vielen Fällen sind die Klumpen, die übrigens niemals die Zellen völlig ausfüllen, von farblosen Hyphen umgeben. Ich nehme an, dass diese nach vollendeter Desorganisation des anfänglich in den betreffenden Zellen befindlichen Pilzmyceliums eingewandert sind.*) Häufig kann man den anderen Fall beobachten, dass nämlich der noch an Umfang geringe Klumpen neben oder zwischen kräftigen, stark angeschwollenen, mit gelbem, körnigen Inhalt dicht gefüllten Hyphen sich vorfindet; hier ist scheinbar das Plasma der Gefässpflanze noch dabei, den Pilz für sich auszunützen. Hierdurch erhöhen sich die Lebensfunktionen beider Teile; der Kern der betreffenden Zelle schwillt unter Formveränderung bedeutend an, während die Hyphen oben erwähnte Beschaffenheit annehmen. Auch Magnus beschreibt in seiner schon citierten Studie diese Erscheinung für Neottia und andere Orchideen. Er nennt Hyphen von genannter Beschaffenheit Eiweisshyphen und sagt u. a. treffend: „Es sieht aus, als wenn die Zelle nicht mit einem Male die ganze Portion des Pilzes bewältigen könne. So tritt auch nie in Zellen mit Eiweisshyphen simultane Klumpenbildung ein." Niemals konnte ich bemerken, dass in Zellen, welche derartig pathologisch veränderte Hyphen enthalten, auch farblose, normale Pilzfäden vorkommen. Charakteristisch ist die auffallende Vergrösserung des Zellkerns in den Klumpen führenden Zellen; so betrug, um nur ein Beispiel anzuführen, der Durchmesser des Kernes in zwei nebeneinanderliegenden Parenchymzellen in der Hyphen führenden 15 μ, in der Klumpen enthaltenden 38 μ.

*) Vgl. Magnus. Studien an der endotrophen Mykorrhiza von Neottia Nidus avis, pag. 23.

Corallorhiza innata R.Br.

Die Mykorrhiza von Corallorhiza innata war schon mehrfach der Gegenstand eingehender Untersuchungen. Vaughan Jennings*) hebt in seiner Abhandlung hervor, dass infolge Verschleimung der Wurzelhaarspitze eine chemotropische Reizwirkung den im Substrat verlaufenden Pilz veranlasst, zu dem Haarbüschel hinzuwachsen. Es ist auch ganz auffällig, wie an einigen Stellen die derben, braunen, mit Schnallenbildungen versehenen Hyphen von allen Seiten nach dem Wurzelhaarbüschel hinwachsen. Daneben ist aber auch sehr häufig der Austritt der Hyphen aus den Haaren zu konstatieren. Die Wachstumsrichtung der Hyphen ist hier wie bei Epipogon durch Beobachtung der Verzweigungen und Schnallenzellenbildungen, welche an den in den Haaren und Epidermiszellen verlaufenden Pilzfäden reichlich auftreten, deutlich sichtbar. Meistens bemerkte ich nach aussen verlaufende Pilzfäden, aber es war auch in einigen Fällen ein umgekehrtes Wachstum der Fäden bemerkbar. Die letzteren muss ich wohl als Infektionshyphen den anderen gegenüberstellen; sie zeichneten sich ausserdem durch grösseren Durchmesser, derbere Membran- und plasmareichen Inhalt aus. In einer Studie Mac Dougal's**) über die Mykorrhiza von Corallorhiza Arizonica, welche mir erst nach Abschluss meiner Untersuchungen zur Kenntnis kam, wird besonders das Ausstrahlen der Hyphen durch die Haare des Rhizomes betont. Diese Behauptung kann ich wohl durch meine Beobachtungen in Bezug auf die Lage der gebildeten Querwand in den Schnallenzellen als bewiesen hingestellt erachten.

Untersuchungen, die ich an einem im Januar dem Walde entnommenem Rhizom anstellte, zeigten folgendes.

*) Vaughan Jennings and Hanna. Corallorhiza inn. and its Mycorrhiza. "Sc. proc. of the roy. Dublin soc. IX, 1.

**) Mac Dougal. Symbiosis and Saprophytism. Contributions from the New York Botanical Garden. No. 1. 1899.

Dicht hinter der Spitze des Rhizomes, die, wie bekannt, pilzfrei ist und deren Zellen reichlich Stärke enthalten, befand sich der Pilz in der kräftigsten Entwicklung. Neben den Verbindungen des Pilzes durch die Haare waren an diesen Stellen nicht selten durch die Epidermiszellen verlaufende Kommunikationshyphen zu bemerken. Weiter nach dem basalen Teile zu, etwa 1 mm von der Spitze des Rhizoms entfernt, bildeten die in den inneren Zellreihen befindlichen Hyphen schon dichte, verschlungene Knäuel, jedoch war es noch möglich, die einzelnen, inhaltsreichen Hyphen in ihnen zu unterscheiden. Etwa 2 mm von der Spitze entfernt traten in überwiegender Anzahl die toten, vollkommen degenerierten Klumpen auf; nur in den nach der Epidermis zu gelegenen Zellen war die Degeneration meistens noch nicht eingetreten; kräftige Hyphen verliefen auch hier, sowohl durch die Epidermis, wie durch die Haare in das Substrat hinaus. In den Klumpen führenden Zellen konnte ich ebenso wie Jennings eine starke Hypertrophie der Kerne bemerken. Die geschilderten Verhältnisse können natürlich in verschiedenen Rhizomen sehr variieren; besonders ist die Längenausdehnung der pilzfreien, terminalen Zone eine wechselnde.

Der Vorteil der Pilzsymbiose bei Corallorhiza liegt nach Jennings mehr auf Seiten der Gefässpflanze. Er sagt: „More probable seems the view, that there is no symbiosis, but that the fungus is captured and utilised by the orchid without any compensating benefit to itself". Ich kann mich mit dem letzteren Teil dieses Satzes nicht befreunden; in zu scharfem Gegensatz zu ihm steht das auffällige Verschwinden der Stärke in den pilzbewohnten Zellen.

Die Bildungsweise der Stärke in diesem fast chlorophyllfreien Organismus ist mit Sicherheit noch nicht bekannt. Reinke*) hat festgestellt, dass Corallorhiza Stärke aus

*) Reinke. Zur Kenntnis des Rhizomes von Corallorhiza und Epipogon, Flora LVI.

dem Humus des Bodens durch einen saprophytischen Ernährungsprozess zu erzeugen vermag. „Der Beweis," sagt er, „beruht darauf, dass die sich unterirdisch entwickelnden, absolut chlorophyllfreien Keimpflänzchen bereits mit Stärke erfüllt sind." Über die Aufnahme der organischen Verbindungen bringt Reinke zwei Annahmen, von denen er als die wahrscheinlichere diejenige erklärt, welche besagt, dass die betreffenden Stoffe gelöst in der Bodenflüssigkeit sich finden. Nach der zweiten Annahme werden feste Humuspartikel durch den sie innig berührenden Saft des Rhizoms in Lösung gebracht und so der Pflanze zugeführt. In beiden Fällen jedoch erfolgt nach Reinke die Aufnahme der betreffenden Stoffe selbständig durch die Pflanze. Meiner Ansicht nach, welche sich auf Stahl's Theorie der Mykorrhizenbildung gründet, sind es die vom Rhizom in das Substrat ausstrahlenden Hyphen, welche bei diesem Organismus vor allem für die Nahrungsaufnahme in Betracht zu ziehen sind. Derselben Meinung ist auch Mac Dougal, der sich in seiner schon von mir erwähnten Abhandlung folgendermassen über die gegenseitigen Beziehungen der beiden Symbionten äussert: „The higher plant affords lodgment for the fungus and carries on chemical transformations the products of which are available to the fungus. The latter absorbs and yields to the higher plant in a more or less complex form the products of the humous soil."

Neottia Nidus avis L.

Die Mykorrhiza dieser holosaprophytischen Orchidee ist in jüngster Zeit von Werner Magnus*) in sehr eingehender Weise beschrieben worden. Neottia ist von den einheimischen Orchideen wohl die einzige, welche nach dem Blühen und Fruktifizieren fast immer völlig abstirbt;

*) Siehe Einleitung pag. 6.

**) Irmisch. Beiträge zur Biologie und Morphologie der Orchideen. Leipzig 1853.

Irmisch**) hat allerdings, wenn auch selten, blühende Exemplare gefunden, die noch die Reste des vorjährigen und zweitvorjährigen Stengels zeigten; ich habe bei dreissig Pflanzen, die im Sommer geblüht und fruktifiziert hatten, beim Nachgraben im Herbst gefunden, dass sie völlig abgestorben waren; von der grossen Zahl Orchideen, die ich in Töpfen unter sonst möglichst dem Zustande in der freien Natur angepassten Umständen für meine Untersuchungen kultivierte, war Neottia die einzige, welche in sämtlichen Exemplaren schon Anfang Oktober völlig abgestorben war. Drude*) ist mit Irmisch der Meinung, dass die Fortpflanzung der Neottia hauptsächlich vegetativ durch Austreiben von Axillarknospen geschieht; er giebt jedoch zu, dass bei besonders schwächlichen Exemplaren die Knospe nicht zur völligen Entfaltung kommt. Aber auch bei verhältnismässig kräftigen Exemplaren fand ich im Winter keine neuen Triebe. Würde man die Fruktifikation der Neottia durch Abschneiden des Stengels in der ersten Blüteperiode verhindern, so würde die Pflanze wohl unter Auswachsen von Seitenknospen, die wohl auch sonst zuweilen sich entfalten, ein längeres Leben fristen. Nach meinen Beobachtungen ist dies aber jedenfalls nicht die Regel. Im Gegensatz zu Irmisch betont auch Prillieux**), dass sich Neottia nicht durch Axillarknospen fortpflanzt, meint aber, dass die Wurzel, nachdem der oberirdische Teil der Pflanze abgestorben ist, teilweise fortvegetiert und die Wurzelhaube sich schliesslich zu einer Blätter tragenden Knospe umwandelt. Vermutlich wird dieser Fall von vegetativer Fortpflanzung bei Neottia nicht selten sein; wie mir Herr Professor Stahl mitteilte, ist er des öfteren von ihm bemerkt worden. Für gewöhnlich jedoch stirbt Neottia nach der Samenreife ab. Nach Abschluss meiner Untersuchungen

*) Drude. Die Biologie von Monotropa Hypopytis und Neottia Nidus avis. Göttingen. Preisschrift.

**) Prillieux. De la structure anatomique et du mode de végétation du Neottia Nidus avis L. Ann. de sciences nat. IV.

kam mir eine Studie M. Noël Bernard's*) zur Einsicht, welche unter anderem auch über Neottia interessante Details enthält. Auch Bernard hat bei den meisten von ihm beobachteten Exemplaren das Absterben beobachtet. Irmisch's und Drude's Behauptung über die vegetative Fortpflanzung durch Axillarknospen führt M. Noël Bernard auf eine falsche Schlussfolgerung infolge Beobachtung von zu wenig Fällen zurück, eine Ansicht, der ich mich gern anschliesse. Er sagt pag. 113 seiner Arbeit: „Ce qui pourrait faire croire à la fréquence du mode de végétation sympodique régulier c'est que l'on trouve comme j'ai dit au moment de la floraison des bourgeons hautement différenciés à la partie autérieure du rhizome, où s'attache la hampe. Mais comme l'a fait observer Prillieux, on constate, quand on déterre les pieds pendant l'automne que la plupart sont morts après avoir fleuri." Als Ursache für die allerdings höchst auffallende Thatsache, dass die angelegten Axillarknospen in der Regel nicht zur völligen Entwickelung kommen, könnte man nach bekannten Beispielen annehmen, dass sich die Pflanze bei der Fruchtreife zu sehr erschöpft. Dieser Annahme entsprechend war das Resultat, welches ich bei der Untersuchung von einigen im Monat September dem Walde entnommenen Wurzeln und Rhizomen erhielt; sie erwiesen sich als völlig stärkefrei. Dagegen fand Noël Bernard zu derselben Jahreszeit fast ebensoviel Stärke in den Wurzeln wie kurz vor der Blüteperiode.

Voll und ganz kann ich die von Bernard mitgeteilte Beobachtung über den Standort der Neottia bestätigen. In den Buchenwaldungen des unweit von Jena gelegenen Vollradisrodaer Forstes fand ich sie stets in zahlreichen Exemplaren an den Böschungen schmaler, etwas tiefer wie der Waldboden verlaufenden Gräben, die aber für gewöhn-

*) M. Noël Bernard. Études sur la Tubérisation. Revue générale de Botanique. 1902.

lich völlig trocken sind. Durch die eingesenkte Lage derselben sammelt sich das in sie von beiden Seiten hineinfallende Laub an und bereichert dadurch diese Stellen des Waldbodens mit einem grösseren Prozentsatz organischer Stoffe als die andern.

Während bei Epipogon und Corallorhiza leicht sichtbare Verbindungen des endophyten Pilzes mit Aussenmycelien reichlich zu bemerken sind, ist dies nicht der Fall bei Neottia. Diese Thatsache ist deshalb so auffallend, weil Neottia ebenso wie die beiden genannten Orchideen sehr chorophyllarm ist und ihre unterirdischen Vegetationsorgane sowohl durch die Anordnung, wie durch den Mangel an Wurzelhaaren nicht sehr geeignet zur Nahrungsaufnahme sind. In fast allen Abhandlungen über diese interessante Orchidee finden wir Angaben über das spärliche Ausstrahlen des im Innern der Wurzel lebenden Pilzes. Schon Drude berichtet, dass er auf zahlreichen Schnitten, die er von der Wurzel wie von dem Rhizom fertigte, nur selten einige Mycelfäden durch die Epidermis treten sah; auch Magnus betont in seiner Arbeit die geringe Kommunikation des endophyten Pilzes und kommt dadurch zu einer Auffassung der Nahrungsaufnahme, welche mit der von Reinke für Corallorhiza gegebenen übereinstimmt. Magnus sagt pag. 59: „Bei Neottia scheinen jedenfalls osmotisch alle zur Ernährung dienenden Stoffe direkt von der Pflanze aufgenommen zu werden.“ So leicht wie bei Corallorhiza könnte wohl dieser Vorgang bei Neottia infolge der bedeutend stärkeren Cuticularisierung der Epidermiszellen nicht erfolgen. Auch M. Noël Bernard findet keine Kommunikationen in beträchtlicher Zahl, trotzdem er die Wurzel und das Rhizom in sehr verschiedenen Altersszuständen untersuchte. Die angeführten übereinstimmenden Resultate lassen ohne Zweifel die Auffassung von Magnus für die Nahrungsaufnahme der Neottia als eine höchst-

wahrscheinlich richtige zu; jedoch möchte ich hier bemerken, dass ich in einigen im Verhältnis zur Zahl der von mir untersuchten Neottia-Wurzeln seltenen Fällen eine regelmässige, wenn auch nicht allzuhäufige Verbindung der endotrophen Pilzfäden durch die Epidermiszellen nach dem Substrat hin konstatieren konnte. Die betreffenden Wurzeln befanden sich noch in jugendlichem Zustand; an älteren Wurzeln angestellte Untersuchungen ergaben stets ein den früher veröffentlichten Resultaten entsprechendes Ergebnis.

Durch physiologische Untersuchungen ist bis jetzt noch nicht entschieden, ob die chlorophyllarmen und chlorophyllfreien Saprophyten selbständig das humusreiche Substrat ausnützen oder ob ihnen hierbei die Pilzmycelien behilflich sind. Für die letztere Auffassung scheinen u. a. folgende Thatsachen zu sprechen. Die raschwüchsigste der drei eben betrachteten Orchideen dürfte wohl Epipogon sein. Es ist zwar bekannt, dass die Pflanze an den ziemlich seltenen Standorten Mitteldeutschlands nicht in allen Jahren zur Blüte kommt, ja oft mehrere Jahre ausbleibt. In den feuchten, humusreichen Fichtenwäldern der Alpen ist sie jedoch regelmässig in jedem Jahre in Blüte zu finden. Bemerkenswert ist ferner die reiche, von blühenden Exemplaren ausgehende vegetative Vermehrung durch lange, fadenförmige, weit im Humus dahinkriechende Ausläufer. Bei dieser raschwüchsigen Art sind die Kommunikationen zwischen den Aussenmycelien und dem Endophyten besonders reichlich vorhanden. Dasselbe gilt, allerdings in etwas geringerem Grade, für die wiederholt blühenden Stöckchen von Corallorhiza. In einem gewissen Gegensatze hierzu steht das Verhalten der erst nach Verlauf von mehreren Jahren blühenden und nach der Samenreife meist absterbenden Neottia Nidus avis. Bei dieser erst nach langer Zeit zur Blühreife gelangenden Pflanze sind die

Verbindungen bei weitem am spärlichsten vorhanden, sodass also ein Zusammenhang zu bestehen scheint zwischen Schnelligkeit der Entwicklung und der Zahl der im Substrat ausstrahlenden, die Nahrungsaufnahme besorgenden Hyphen.

II. Untersuchungen an endotrophen Mykorrhizen hemisaprophytischer Pflanzen.

Orchideae.

Die angestellten Untersuchungen an der Mykorrhiza von Orchis militaris L., welche mir leicht zu jeder Jahreszeit zur Verfügung stand, ergaben ein völlig meinen Voraussetzungen in Bezug auf die Veränderungen, welche im Zusammenhang mit den verschiedenen Vegetationsperioden die Mykorrhizen beim Älterwerden erleiden, entsprechendes Resultat.

Eine etwa 4,5 cm lange, im Herbst neu entstandene und im Oktober untersuchte Wurzel war bis 2 cm von der Spitze aus gerechnet pilzfrei. Im basalen Teil der Wurzel fanden sich reichlich Pilzhyphen, welche jedoch nur wenig mit dem umgebenden Substrat in Verbindung standen, erst in dem Teile der Wurzel, welcher dicht an den pilzfreien terminalen Wurzelteil grenzte, waren reichlich Kommunikationen zu beobachten, sowohl durch die Haare, als auch durch die Epidermiszellen direkt.

Eine ungefähr 6 cm lange, kräftig entwickelte, in dem betreffenden Herbst gebildete Wurzel enthielt im Januar mit Ausnahme der terminalen Region in allen Teilen den Pilz; am reichlichsten war er in der Zone 4,5—3,5 cm von

der Wurzelbasis aus gerechnet vorhanden, hier sah man auch fast auf jedem Schnitte reichlich Kommunikationen des Pilzes mit dem im Substrat verlaufenden Mycel. Weiter nach der Spitze hin waren ebenfalls, wenn auch spärlich, Pilzfäden vorhanden; der Pilz war in diesen Teil der Wurzel vorgedrungen, hatte sich aber noch nicht in demselben weiter ausgebreitet; Kommunikationshyphen fehlten hier. Nur in den Zellen der basalen Wurzelregion war überwiegend beginnende und vollendete Klumpenbildung zu bemerken. In einigen anderen gleichaltrigen Wurzeln hingegen war der Pilz schon zu dieser Jahreszeit nur in völlig degeneriertem Zustand vorhanden; in der Regel jedoch enthielten die von mir im Januar untersuchten Wurzeln den Endophyt überwiegend als freie, deutlich unterscheidbare Hyphen.

Im Juli fand ich die Kommunikationshyphen, die gleichmässig in der Längenausdehnung der Wurzel von Orchis militaris verteilt waren, meistens nicht so zahlreich wie an entsprechenden Wurzeln vom Januar. Die Hyphen waren zum grossen Teil nicht mehr in normalem Zustand, sondern mehr oder weniger in Form von Eiweisshyphen (vgl. Epipogon) und Klumpen degeneriert.

Auch W. Magnus betont, dass in einer Wurzel zuweilen nur Klumpen vorkommen; er hat diese Erscheinung beobachtet bei den Orchideen Listera ovata, Platanthera bifolia und Cypripedium spectabile.

Die geschilderten Verhältnisse, die ich übrigens im allgemeinen auch bei anderen von mir untersuchten Orchideen fand, können allerdings, besonders in der Längenausdehnung der einzelnen Zonen, sehr variieren. Auch ist es ja bekanntlich häufig, dass eine Wurzel bezw. ein Rhizom nur stellenweise den Pilz enthält. Frühzeitig im Jahr gebildete Wurzeln sind zuweilen, wenn bald nach ihrem Hervortreten die Infektion erfolgt, schon im Juli vollkommen endotroph verpilzt; vielfach fand ich aber auch

derartige Wurzeln in dieser Jahreszeit frei vom Pilz, was im Herbst ein verhältnismässig seltener Fall war. Nach meinen Beobachtungen scheint das Eindringen von Hyphen in Wurzeln vorzüglich am Ausgang der Sommervegetationsperiode zu erfolgen. Über die Einwanderung der Pilzfäden in Orchideenwurzeln bringt schon Mollberg*) interessante Angaben. Er betont, dass bei denjenigen Orchideen, die auch im Rhizom oder Stengel den Pilz beherbergen, sich die Einwanderung am einfachsten gestaltet. „Sie erfolgt aber nicht gleich bei der ersten Anlage der Wurzel, sondern erst, nachdem sie mit Haube und Vegetationspunkt aus dem Mutterorgan hinausgerückt ist."

Eine Beeinflussung in der Entwicklung der ectotrophen Mykorrhiza durch bestimmte Jahresperioden konstatiert Büsgen**). Er sagt: „Auch die Mykorrhizapilze entwickeln sich aufs lebhafteste im Spätherbst. Ihnen hat sich wie den Wurzelhaaren in dem frisch gefallenen aschenreichen Laub eine besonders ergiebige Nährstoffquelle erschlossen, die sie nicht zögern, sich und dem Baum nutzbar zu machen."

Aus Büsgen's Untersuchungen geht hervor, dass neben vermehrtem Längenwachstum der Baumwurzeln eine lebhafte Entwicklung der ectotrophen Mykorrhizapilze vor sich geht; ein ähnlicher Zusammenhang besteht wahrscheinlich auch zwischen den verschiedenen Stadien im Entwicklungsgange des endotrophen Mykorrhizapilzes und der Stärke des Längenwachstums der betreffenden Wurzel. Genauere Untersuchungen über die Frage sind jedoch von mir nicht vorgenommen.

Wie erwähnt, waren die Kommunikationshyphen in vielen Fällen hauptsächlich in gewissen Zonen der Wurzel

*) Mollberg. Untersuchungen über die Pilze in den Wurzeln der Orchideen. Jen. Zeitschrift f. Naturw. XVII, 519.

**) Büsgen. Einiges über Gestalt und Wachstumweise der Baumwurzeln. Allgem. Forst- und Jagdztg. August-Heft 1901.

vorhanden, zuweilen waren sie aber auch regellos in der ganzen Längenausdehnung derselben verteilt. Von einem spärlichen Austreten der Pilzfäden kann ich bei den von mir untersuchten chlorophyllhaltigen Orchideen nicht sprechen. Allerdings kann man zuweilen aus einer pilzbefallenen Wurzel eine ganze Anzahl Schnitte durchmustern, ohne Kommunikationshyphen zu finden; dieses hindert aber, wie aus Obigem hervorgeht, durchaus nicht, dass im allgemeinen eine reichliche Kommunikation des Pilzes nach aussen hin stattfindet. Es ist gar kein seltener Fall, dass auf einem einzigen Querschnitt aus dem mittleren Teile einer Wurzel 4—5 nach aussen tretende Pilzfäden zu bemerken sind. Die Frage, ob diese Hyphen wirklich nach aussen verlaufende oder eindringende Pilzfäden waren, liess sich fast in allen Wurzeln durch Beobachtung der meistens allerdings spärlich auftretenden Verzweigungen derart entscheiden, dass in der Regel Austrittsfäden zu konstatieren waren. (Fig. 3 und 4.)

Die Haarentwicklung an den Wurzeln unserer grünen Orchideen ist mit einigen Ausnahmen bekanntlich keine allzustarke; ob diese Thatsache im allgemeinen eine Folge der Pilzsymbiose ist, kann ich vorläufig nicht entscheiden. Speziell bei Ophrys muscifera H. scheinen meine Beobachtungen dafür zu sprechen. Einige Exemplare dieser Orchidee, welche zur Blüteperiode dem Walde entnommen und in Gartenerde sorgfältig eingepflanzt wurden, zeigten im Herbst neu entstandene, kräftige Wurzeln. Schon die helle Farbe derselben verriet ihre pilzfreie Beschaffenheit, welche sich auch durch die mikroskopische Untersuchung ergab. Verhältnismässig stark waren im Gegensatz zu den verpilzten Wurzeln die Haare entwickelt. Diese Pflanzen waren im Frühjahr trotz vorsichtiger Pflege vollständig abgestorben, ob infolge der mangelnden Verpilzung oder aus anderen Gründen, muss ich dahingestellt sein lassen. Die bei den unverpilzten Wurzeln regelmässig gefundene stärkere

Wurzelhaarbildung weist auf eine Beeinflussung durch die Pilzinfektion hin. So hat auch Heinricher*) in seiner Abhandlung über die einheimischen Polygala-Arten angegeben, dass bei Mangel von Mykorrhizen jedenfalls die Fähigkeit zur Wurzelhaarbildung vorhanden ist. Da diese Fähigkeit bei Ophrys muscifera auch bei den mycotrophen Wurzeln zur Geltung kommt, so haben wir hier nur zu konstatieren, dass die Wurzelhaarbildung mehr oder weniger durch den Pilz unterdrückt wird.

Polygala amara L.

Über die Mykotrophie der Polygalaceae berichtet als erster Stahl in seiner schon öfters citierten Abhandlung. In einer kurz darauf erschienenen schon von mir angeführten Schrift kommt auch Heinricher zu dem Resultat, dass unsere einheimischen Polygala-Arten keine Parasiten sind; nach seiner Annahme ist als obligate Mykorrhizenpflanze nur Polygala Chamaebuxus L. zu bezeichnen, während die übrigen: Polygala amara L., P. amarella Cr., P. vulgaris L. etc. als fakultative zu bezeichnen sind. Allerdings giebt Heinricher die Möglichkeit zu, dass unter den in der freien Natur gebotenen Bedingungen sich vielleicht infolge der Konkurrenz mit anderen Pflanzen auch letztgenannte Polygalaceen als obligate mykotrophe Pflanzen, wie sie Stahl bezeichnet hat, erweisen würden.

Von zahlreichen untersuchten Exemplaren der Polygala amara L. konnte ich kein einziges finden, welches nicht mehr oder weniger deutliche Wurzelverpilzung gezeigt hätte. Kräftige Hyphen vermitteln die Kommunikation zwischen Endophyt und Substrat. Die Anzahl dieser Verbindungshyphen war an jüngeren, im April und vor der Blütezeit

*) Heinricher. Unsere einheimischen Polygala-Arten sind keine Parasiten. Berichte des naturwissensch.-medizin. Vereins in Innsbruck, XXVI. Jahrg. 1900/01.

der Pflanze untersuchten Wurzeln nicht unbeträchtlich; in älteren Wurzeln konnte ich dagegen nur eine sehr spärliche Kommunikation des Endophyten nach aussen hin konstatieren. Durch die kurzen, spärlich vorhandenen, nur lokal reichlicher auftretenden Wurzelhaare sah ich niemals den Pilz hindurchtreten. Derselbe bewohnt in der Regel zwei Zellreihen; und zwar liegen in den mehr nach der Scheide zu gelegenen Zellen, die stark in radialer Richtung gestreckt sind, die bekannten Klumpen, während in den mehr der Epidermis genäherten Zellen die Hyphen verlaufen, wenigstens in jüngeren Wurzeln; in älteren treten uns auch hier Klumpengebilde entgegen. Dieselben zeichnen sich durch starkes Lichtbrechungsvermögen aus und geben sehr schön mit Chlorzinkjod die Cellulosereaktion. Nicht selten sind in einer Zelle mehrere Klumpen vorhanden. Häufig steht einer derselben durch eine Hyphe mit den in anderen Zellen befindlichen in Verbindung; bei schwächerer Vergrösserung hat es den Anschein, als ob der Klumpen durch einen Stiel der Zellwand aufsässe, bei stärkerer aber sieht man die Stielhyphe durch die Zellwand in die benachbarte Zelle treten. Die in der Wurzel verlaufenden Pilzfäden besitzen beträchtlichen Durchmesser, doch steht er in der Regel etwas hinter dem der Kommunikationshyphen zurück; die letzteren sind zuweilen, besonders bei älteren Wurzeln, von einer Cellulosehülle umgeben. Die Hyphen sind meistens farblos; sie besitzen oft körnigen Inhalt, welcher sich auf Jodzusatz intensiv dunkelgelb färbt. In selteneren Fällen nahm der Pilz nicht zwei, sondern drei Zellreihen ein. (Fig. 7.) Dann war die Verteilung der Hyphen enthaltenden und Klumpen führenden Zellen häufig eine derartige, dass in der vierten und zweiten Zellreihe von der Epidermis aus gerechnet die Klumpen lagen, während dazwischen, also in der dritten Reihe, das noch intakte Pilzmycel sich befand. Mit dem Älterwerden der Wurzel degenerieren auch die in der mittleren Zellreihe befindlichen Hyphen, sodass

sich schliesslich in der Wurzel eine dreifache Reihe Klumpen enthaltender Zellen vorfindet. Ähnliche Verhältnisse fand ich bei Polygala vulgaris L. vor.

Pirolaceae.

Die bis jetzt bekannten Thatsachen über die Mykotrophie der Pirolaceen sind in Stahl's Mykorrhizen-Untersuchungen sowie in einer Studie von N. Kramar*) niedergelegt. Schon Irmisch**) erwähnt, dass man „in den Oberhautzellen der Wurzel von Pirola uniflora, ähnlich wie in den Wurzeln und unterirdischen Achsen mancher Orchideen, eine zusammengeballte dunkle Masse findet, die oft die ganze Zelle erfüllt". Stahl konstatiert das allgemeine Vorkommen der Mykotrophie bei den Pirola-Arten, Kramar schildert eingehend das Verhalten der ecto- und endotroph auftretenden Mykorrhiza von Pirola rotundifol. L. Er weist unter anderem ausdrücklich auf die „lebhafte Kommunikation, die sowohl zwischen dem äusseren Pilzmantel und den Epidermiszellen als auch unter den Epidermiszellen selbst besteht," hin und meint, dass „im Zusammenhang mit der Bildung des Pilzmantels die Wurzelhaare völlig unterdrückt werden". Meine Beobachtungen an Pirola rotundifolia und P. minor, deren Mykorrhiza ebenfalls von Kramar untersucht worden ist, stimmen mit seinen Resultaten überein. Bei den übrigen von mir untersuchten Pirolaceen (Pirola secunda, P. chlorantha, P. uniflora) fand ich mit nur wenigen Ausnahmen bei sorgfältigem Suchen in Übereinstimmung mit Stahl's Angaben reichlich endotroph verpilzte Wurzeln vor. Vielfach, aber nicht regelmässig, zeichnen sich die endo-

*) N. Kramar. Studie über die Mykorrhiza von Pirola rotundifolia L. Bulletin international de l'Acad. des sciences de Bohême. 1899.

**) Th. Irmisch. Bemerkungen über einige Pflanzen der deutschen Flora. 1855.

trophen Mykorrhizen der Pirolaceen schon äusserlich durch einen stärkeren Durchmesser von den pilzfreien, zarten Nebenwurzeln aus; besonders bei Pirola chlorantha*) ist dies zuweilen sehr auffallend. Die im Frühjahr und Herbst ausgegrabenen Wurzeln zeigten die Verpilzung in der Regel am typischsten. Entweder bildet der in der Pirola-Wurzel lebende Pilz ein mehr oder weniger dichtes pseudoparenchymatisches Gewebe, wie es Kramar für P. rotundifolia beschreibt, oder er befindet sich in dem schon öfters erwähnten Zustand der Eiweisshyphen, der auch hier der völligen Degeneration, der Klumpenbildung, vorherzugehen scheint. Kommunikationen nach aussen hin konnte ich, wenn die Degeneration des Endophyten noch nicht zu weit vorgeschritten war, ziemlich häufig konstatieren.

Linum catharticum L.

Die Wurzeln dieser Pflanze wurden in Übereinstimmung mit Stahl's Angaben von mir stets mycotroph gefunden. Sie sind gewöhnlich nicht ihrer ganzen Länge nach, sondern nur streckenweise verpilzt. In jüngeren Wurzeln fand ich die Verpilzung spärlicher wie an älteren. Die Hyphen können sehr eigentümliche Formen annehmen, indem sie ziemlich umfangreiche Ausstülpungen bilden; ihre Membran ist verhältnismässig dick und stark lichtbrechend. Der Inhalt der Hyphen im Innern der Wurzel ist farblos oder schwach gelblich; ihr Austreten aus der Wurzel konnte in einigen Fällen von mir beobachtet werden.

Nicht selten sah ich in den Wurzelparenchymzellen in Verbindung mit dem Pilze eigenartige, umfangreiche Gebilde, welche wohl mit den vésicules Janse's identisch sind. Sowohl die Form, wie die Grösse dieser Vesikel ist eine sehr wechselnde; ihr Inhalt besteht aus stark lichtbrechenden, kleinen rundlichen Körpern von vermutlich

*) Vergl. Irmisch Flora 1859, p. 499.

fettartiger Natur; verschiedene Reaktionen wiesen darauf hin. Auch Shibata*) bezeichnet den Inhalt der Vesikel bei Podocarpus im älteren Zustand als „Fetttropfen", bei Psilotum triquetrum als „stark lichtbrechende Fettkörper".

Klumpenbildung war in Wurzeln, die vor der Blütezeit der Pflanze ausgegraben, nur wenig vorhanden; dagegen zeigte sie sich reichlich in solchen, die einer späteren Vegetationsperiode entstammten. Behaarung der Wurzel ist im allgemeinen spärlich, doch kommt lokal zuweilen eine reichliche Wurzelhaarbildung vor.

Pinus sylvestris L.

Die interessanten Ergebnisse, welche Möller**) in seiner Studie über die Wurzelbildung der Kiefer erhielt, veranlassten mich, eine Anzahl Kieferwurzeln, welche teils typischem Humusboden, teilweise einem sandigen Substrat (Buntsandstein und Diluvialsand), teils einem humusarmen Muschelkalkboden entnommen waren, einer vergleichenden Untersuchung bezüglich der Ausbildung der Mykorrhiza zu unterwerfen. Die ectotrophen Mykorrhizen waren in Übereinstimmung mit Möller's Angaben in üppigster Entwickelung bei den vom Sandboden entnommenen Exemplaren vorhanden; gleichfalls reichlich, wenn auch in etwas minderem Grade wie bei den genannten, waren sie bei den im Muschelkalk gewachsenen Kiefern zu konstatieren. Vorhanden waren sie auch bei den Humuskiefern, allerdings in weit geringerer Anzahl als bei den im humusarmen, bezw. humusfreien Substrat gewachsenen. Die endotrophe Mykorrhiza in der von Möller beschriebenen Form war in

*) K. Shibata. Cytologische Studien über die endotrophen Mykorrhizen. Jahrbücher für wissensch. Bot. XXXVII. Bd. Heft 4.

**) Möller. Über die Wurzelbildung der ein- und zweijährigen Kiefer im märkischen Sandboden. Zeitschrift für Forst- und Jagdwesen 1902, Heft 4.

fast allen Fällen vorhanden; ein Durchwuchern des endotrophen Pilzmycels durch die Aussenwand der Wurzel wurde des öfteren von mir bemerkt.

Im Anschluss an das soeben Mitgeteilte möchte ich an dieser Stelle kurz auf die Kommunikation des Endophyten mit Aussenmycelien bei der exotischen Konifere Podocarpus chinensis eingehen. In einer kürzlich veröffentlichten, von mir schon erwähnten Studie berichtet K. Shibata u. a. auch über die Mykorrhiza von Podocarpus. Die Frage nach der Ernährungsweise der endophytischen Pilze bezeichnet er als eine noch offene und hofft, durch ausgedehnte experimentelle Studien eine Lösung dieses interessanten Problems zu erhalten. Auch hier bei Podocarpus ist, wie schon Janse in seiner früher citierten Arbeit ausdrücklich erwähnt, die Aussenwand der Epidermis der den Pilz beherbergenden Knöllchen verdickt; Haare fehlen an den Wurzeln wie an den Knöllchen, die man nach Janse als Seitenwurzeln mit unterbrochenem Längenwachstum aufzufassen hat. In den Epidermiszellen der von mir untersuchten Knöllchen, welche Gewächshausexemplaren im Monat November entnommen waren, befanden sich sehr häufig Pilzfäden; von einigen noch jungen Knöllchen liess sich fast auf einem jeden untersuchten Querschnitt das Durchbrechen der Hyphen durch die Aussenwand der Epidermis bemerken. Diese Kommunikationsfäden besassen zuweilen stärkere Membran, plasmareicheren Inhalt und grösseren Durchmesser als die übrigen im Wurzelparenchym befindlichen Hyphen. (Fig. 8.) Auch Shibata giebt an, dass die äussersten Zellschichten des Knöllchens zuweilen derbe Pilzfäden beherbergen; jedoch betont er, dass der endotrophe Pilz nur eine äusserst spärliche Verbindung nach aussen besitze. Allerdings ist es richtig, dass man in vielen Fällen die in der Epidermis verlaufenden Pilzfäden im Verhältnis zu der Anzahl der den Pilz enthaltenden

Oberhautzellen relativ selten nach aussen treten sieht; aber ohne Zweifel muss man auch berücksichtigen, dass beim Anfertigen der betreffenden Schnitte ein Abreissen der austretenden Hyphen an der Stelle, wo sie die Membran durchbrechen, sehr leicht möglich ist. Die Verzweigung der Fäden in den Epidermiszellen war nur eine spärliche, sodass es mir nur selten gelang, hierdurch auf ihren Charakter als Infektions- oder Austrittshyphen sicher schliessen zu können. Jedoch die nach meinen Untersuchungen vorhandene relative Häufigkeit der kommunizierenden Hyphen sowie Shibata's Angabe, dass die Knöllchen schon während des Wachstums seitens der Mutterwurzel von Pilzfäden infiziert werden, scheinen mir dafür zu sprechen, dass man die betreffenden Hyphen als Austrittsfäden des endotrophen Pilzes zu betrachten hat.

Botrychium Lunaria Swartz.

Botrychium Lunaria Sw. sowie eine Anzahl anderer Botrychium-Arten ist von A. Y. Grevillius*) bezüglich des Vorhandenseins oder Fehlens der Mykorrhiza untersucht worden. Grevillius kommt zu dem Resultat, dass die Wurzeln aller von ihm untersuchten Individuen pilzführend waren. Für meine Untersuchungen standen mir von Botrychium Spezies nur Botrychium Lunaria Sw., welches teils in der Schweiz, teils in der Umgebung von Jena gesammelt war, zur Verfügung. Sämtliche Wurzeln meiner Exemplare enthielten den Pilz. Wurzelhaare fehlen nach Grevillius sowie nach meinen Beobachtungen der Pflanze völlig. Von Höveler**) wird bemerkt, dass das auf dem Hochmoor von Papenburg wachsende Botrychium Lu-

*) A. Y. Grevillius. Über Mykorrhizen bei der Gattung Botrychium u. s. w. Flora LXXX. 1895.

**) W. Höveler. Über die Verwertung des Humus bei der Ernährung der chlorophyllführenden Pflanzen. Jahrbücher für wissenschaftliche Bot. Bd. XXIV. 1892.

naria an den Wurzeln mit einem dichten Haarfilz bedeckt ist. Da Höveler über Verpilzung nichts vermerkt, so scheint dieselbe bei den betreffenden Exemplaren nicht vorhanden gewesen zu sein; ein Zusammenhang zwischen dem Fehlen der endotrophen Mykorrhiza und dem Vorhandensein von Behaarung wäre somit auch in diesem Falle zu konstatieren. Jedenfalls ist Höveler's Beobachtung sehr interessant und wäre es angebracht, zu untersuchen, ob an derartigen Standorten wachsende Botrychium-Pflanzen sich stets so verhalten.

Neben dem Fehlen der Wurzelhaare machten die mächtige Cuticula, die schon von Stahl hervorgehobene geringe Ausbildung des Gefässbündelsystems im Verein mit dem durchaus xerophylen Standort, von dem ich meine hier gesammelten Exemplare entnahm, es mir von vornherein wahrscheinlich, dass der Pilz wenigstens zu gewissen Zeiten der Vegetationsperiode mit im Substrat verlaufenden Pilzfäden in Verbindung stehen muss. Diese Annahme bestätigten meine Untersuchungen. Die mit dem Substrat kommunizierenden Hyphen (Abbildung 5) fand ich am reichlichsten in Wurzeln vom September; ich zählte bei einer Wurzel von 0,85 mm Durchmesser auf 1 mm Länge im basalen und mittleren Teil 10, im terminalen Teil 10 bis 15 Verbindungshyphen. Die genannten Zahlen können natürlich nur Durchschnittswerte darstellen; auch muss ich hier bemerken, dass ich nicht selten in den Wurzeln, besonders in älteren, nur eine äusserst geringe Verbindung des Endophyten nach aussen hin konstatieren konnte. Im allgemeinen sind, wie geschildert, die Verbindungshyphen an der Mykorrhiza von Botrychium Lunaria längst nicht so reichlich vorhanden, wie beispielsweise bei den chlorophyllhaltigen Orchideen; jedoch ist bei der Frage nach der biologischen Bedeutung der Verbindungshyphen wohl der Umstand zu berücksichtigen, dass gerade sie sich häufig durch einen beträchtlichen Durchmesser auszeichnen. Der-

selbe beträgt für sie gewöhnlich 4—5 μ. In vielen Fällen konnte ich noch eine Strecke ausserhalb der Wurzel den Pilzfaden verfolgen, der nicht selten sich seinen Weg gerade in der Mitte zwischen zwei Epidermiszellen sucht. Viele der Verbindungshyphen vom basalen und mittleren Teil der Wurzel, selten die vom terminalen Teile, waren von einer Cellulosehülle bezw. Cellulosekappe (Abbildung 6) umgeben, eine Erscheinung, welche für endotrophe Pilzfäden zuerst von Mollberg, später genau von Janse in ihren schon früher angegebenen Arbeiten beschrieben worden ist. Auch im Innern des Rindenparenchyms verlaufende Pilzhyphen besassen zuweilen die erwähnte Umscheidung. In den dicht mit Stärke erfüllten Zellen der im September gesammelten Wurzel waren vielfach stark verdickte, nur geringes Lumen zeigende Hyphen vorhanden. Ich möchte sie in Parallele setzen mit den für Neottia von Werner Magnus beschriebenen Ringhyphen.

Die kräftigste Entwicklung zeigte der Endophyt in Wurzeln vom Monat September. Selbst im basalen Teile, in welchem man an Wurzeln von anderen Jahreszeiten die Hyphen nur degeneriert im Klumpenzustande vorfindet, waren reichlich kräftige, lebensthätige Hyphen enthaltende Zellen vorhanden. Nach der Spitze hin waren die Hyphen bis etwa 0,2 cm von dem Vegetationspunkt entfernt vorgedrungen, die ersten Pilzknäuel traten an Wurzeln vom September bedeutend weiter entfernt von den ersten sichtbaren Hyphen auf, wie an Wurzeln vom Januar. Diese Thatsache korrespondiert mit dem erwähnten Auftreten des Pilzes im basalen Teile und bestärkt mich in meiner Annahme, dass der Pilz, wenn er im Herbst in eine gesunde, mit Kohlehydraten angefüllte Wurzel eindringt, sich schnell in dieser durch Längenwachstum verbreitet, dann aber, nachdem er absorbierend und assimilierend für sich und die Gefässpflanze thätig gewesen, der Desorganisation durch das Protoplasma der Wirtspflanze anheimfällt.

Sowohl im basalen Teil der Wurzel wie in allen übrigen Teilen derselben, in welchen neben Klumpen führenden auch Hyphen enthaltende Zellen sich finden, ist die Anordnung meistens derart, dass letztere mehr der Peripherie, erstere mehr dem Gefässbündelstrang genähert sind. Die um ein oder mehrere Vegetationsperioden älteren und frühzeitig inficierten Wurzeln zeigen natürlich bezüglich der Pilzverbreitung ein anderes Verhältnis, als die erst in der betreffenden Periode entstandenen. Letztere, die in dem betreffenden Fall im Vorwinter gebildet waren, erwiesen sich völlig stärkefrei und enthielten in ihrem terminalen Teile wenige, aber sehr kräftige Hyphen. Der Durchmesser derselben betrug 6 μ. Mit dem Fehlen der Stärke hing wahrscheinlich die geringe Ausbreitung des Mycels zusammen. Nur durch wenige Fäden stand der Pilz in diesen Wurzeln mit dem Substrat in Kommunikation; die geringe Zahl mag damit zusammenhängen, dass der Pilz in den betreffenden Wurzeln noch keinen Ausweg nach dem Substrat gesucht hat, und ich infolgedessen nur die Infektionsstellen des Pilzes beobachten konnte. Das Eindringen des Pilzes in die Wurzel erfolgt also, wie auch Grevillius angenommen hat, in dem nach der Wurzelspitze zu gelegenen Teile.

Interessant ist das Verhalten von Botrychium Lunar Sw. bezüglich des Verschwindens und Wiederauftretens der Stärke. Während bei den meisten Mykorrhizenpflanzen die Stärke beim Eintritt des Pilzes in eine Zelle verhältnismässig schnell in derselben verschwindet, ist dies hier nicht der Fall. Man sieht es am besten auf Tangentialschnitten, die vom terminalen Teil von September-Wurzeln hergestellt sind; kräftige, mit farbloser Membran umkleidete, selten septierte Hyphen durchziehen die dicht mit Stärke erfüllten Zellen; beim Hindurchtreten durch die Zellmembran verengert sich der Durchmesser der Hyphe, um gleich wieder zur normalen Breite anzuschwellen. Nicht selten senden

die Hyphen Seitenzweige aus, die an ihrem Ende sich blasig erweitern. Diese intrazellulären Blasen bilden nach Kühn *) die Anfangsstadien des späteren Hyphenknäuels. Beginnt sich nun der Pilz knäuelartig zusammenzuballen, dann verschwindet die Stärke aus diesen Zellen, um in ihnen nach vollständiger Degeneration des Pilzes zuweilen wieder zu erscheinen. Dieses Wiederauftreten der Stärke in den Zellen ist auch für einige andere endotrophe Mykorrhizen schon bekannt.

Zusammenfassung.

Die aus früheren Untersuchungen sich ergebenden Resultate im Verein mit den Erfahrungen, welche ich durch meine Beobachtungen sammelte, berechtigen mich, speziell für die untersuchten einheimischen Pflanzen, zu folgenden Annahmen:

1. Die Beschaffenheit und Ausbreitung des endotrophen Pilzes in der Wurzel bezw. dem Rhizom steht im Zusammenhang mit den verschiedenen Vegetationsperioden, dem damit verknüpften Alter der Wurzel und der Standortsbeschaffenheit.
2. Sowohl die bei Epipogon und Corallorhiza wie bei den verschiedenen grünen Orchideen mit Aussenmycelien kommunizierenden Pilzfäden sind als Austrittshyphen aufzufassen.
3. Die mehr oder weniger reichliche Kommunikation des endotrophen Pilzes mit im Substrat verlaufenden Mycelien, das bewiesene Austreten des Pilzes aus der Wurzel, die Lage der pilzführenden Zellen in Bezug

*) Kühn. Untersuchungen über die Anatomie der Marattiaceen u. a. Gefässkryptogamen. Flora 1889.

auf den Centralstrang, sowie die u. a. auch bei Ophrys muscifera gefundene Beziehung zwischen Verpilzung und Haarentwickelung lässt bei den meisten endotrophen Mykorrhizen auf eine, der physiologischen Funktion der Wurzelhaare ähnliche Bedeutung der Kommunikationshyphen schliessen, wie sie zuerst von Pfeffer*) behauptet, von vielen Forschern später angenommen, mehrfach jedoch auch bezweifelt worden ist.

*) Über fleischfressende Pflanzen und über die Ernährung durch Aufnahme organ. Stoffe überhaupt. Landwirtsch. Jahrbücher von Thiel. 1877.

Figuren-Erklärung.

(Die eingeklammerten Zahlen geben die Vergrösserung an.)

Fig. 1. (240.) Epipogon Gmelini. Terminaler Teil eines Haares mit austretenden Hyphen.

Fig. 2. (240.) Epipogon Gmelini. Basaler Teil eines Haares mit Hyphe.

Fig. 3. (360.) Orchis maculata. Teil eines Querschnittes. Epidermis mit nach aussen tretender Hyphe.

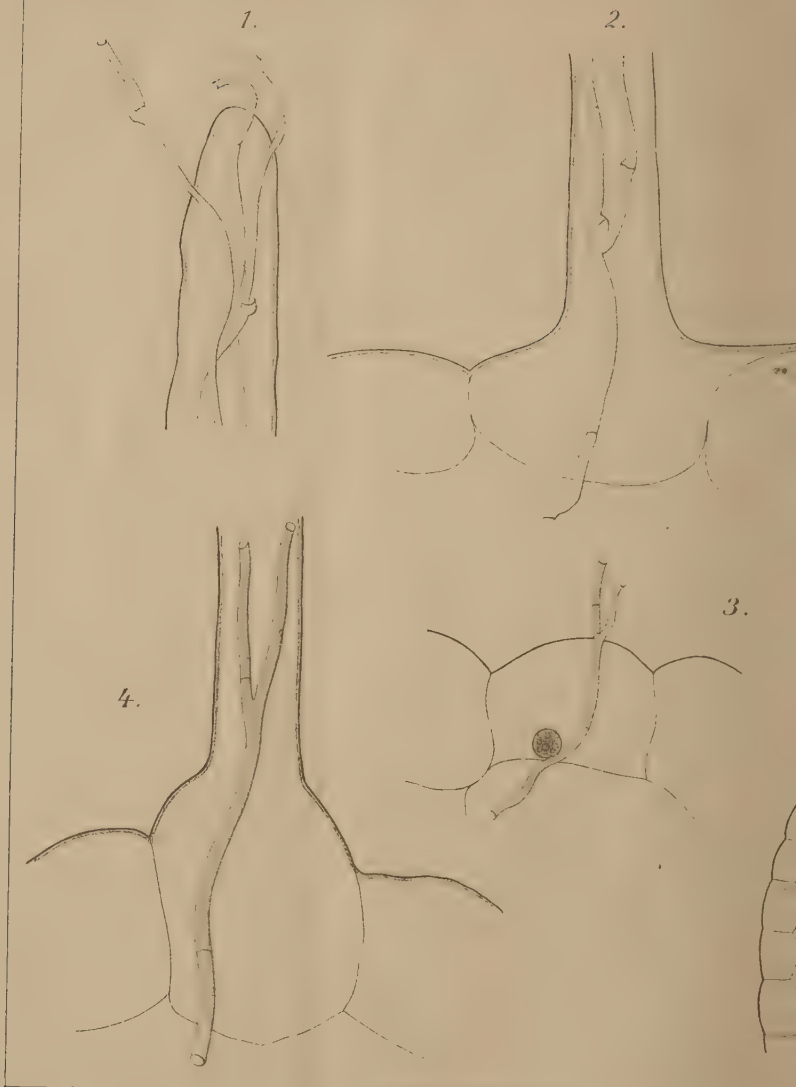
Fig. 4. (360.) Platanthera chlorantha. Basaler Teil eines Haares mit Hyphe.

Fig. 5. (360.) Botrychium Lunaria. Teil eines Querschnittes. Die Cuticula wird von einem Pilzfaden durchbrochen.

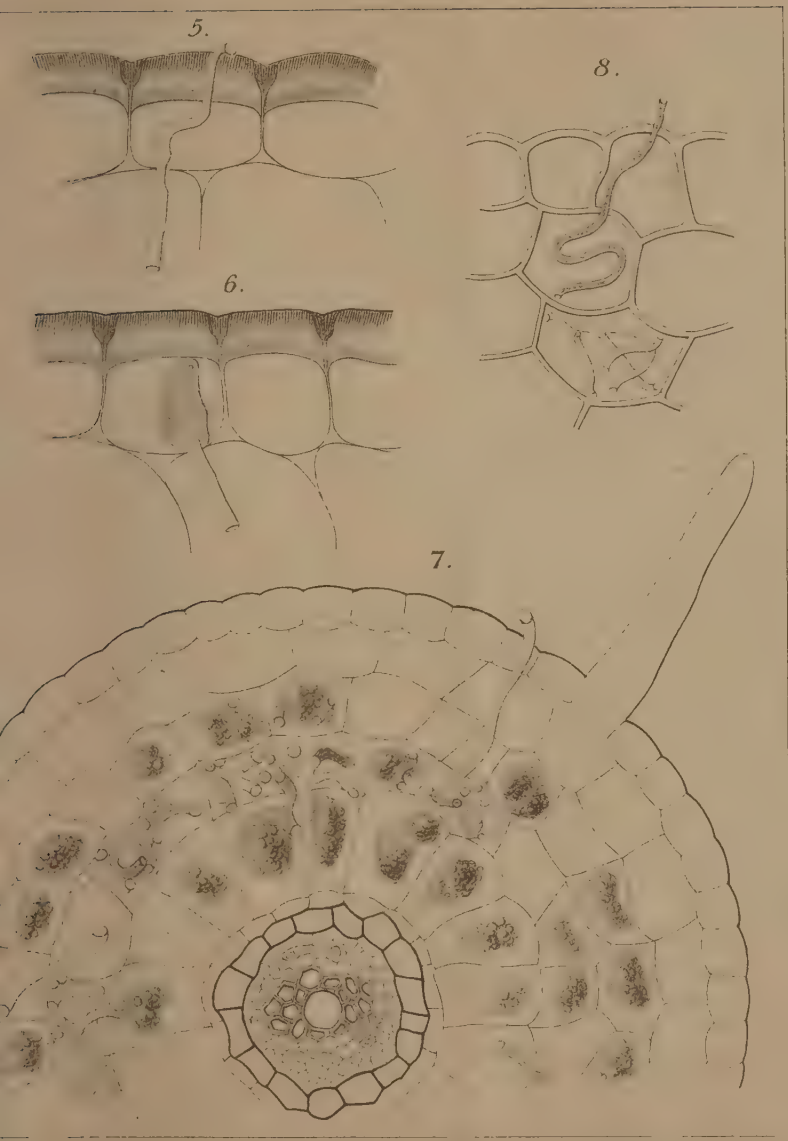
Fig. 6. (360.) Botrychium Lunaria. Teil eines Querschnittes. Hyphe, umgeben von einer celluloseartigen Hülle.

Fig. 7. (240.) Polygala amara. Teil eines Querschnittes.

Fig. 8. (360.) Podocarpus chinensis. Teil eines Querschnittes durch ein Wurzelknöllchen mit Kommunikationshyphe.



M. Marcuse gez.



Lith. Anst. v. A. Giltsch Jena.

Sonderabdruck aus der „Zeitschrift für Forst- und Jagdwesen" 1903, Heft 5.
(Verlag von Julius Springer in Berlin N.)

Untersuchungen über ein- und zweijährige Kiefern im märkischen Sandboden [1].

(Fortsetzung.)

(Vergl. Jahrgang XXXIV, Seite 197 dieser Zeitschrift.)

Von Dr. A. Möller.

Meine Untersuchungen über ein- und zweijährige Kiefern haben im vergangenen Jahre wertvolle Unterstützungen erfahren, denen die hier mitzuteilenden Ergebnisse in erster Linie zu danken sind. Der Herr Minister für Landwirtschaft hat die Mittel zur Anlage eines 16 a großen Versuchsgartens in der Oberförsterei Eberswalde in nicht zu weiter Entfernung von der Stadt bewilligt. Der Garten ist fest umfriedigt, ein kleines Bretterhäuschen ermöglicht einfache Beobachtungen an Ort und Stelle, auch bei ungünstigem Wetter, und ein Brunnen ist angelegt. Der derzeitige Revierverwalter, Herr Forstmeister Dr. Martin, ist mir bei diesem Einbruch in sein Reich auf das freundlichste entgegengekommen. Für mehrere Monate wurde mir zur Hilfe, besonders bei der ersten Anlage des Gartens und bei Ausführung der ersten Versuchsarbeiten, der Förster Spitzenberg beigegeben, dessen reger Eifer für die Sache die gute und zweckentsprechende Ausführung aller Arbeiten sicherte. Von ganz besonderem Werte war die Mitarbeit meines verehrten Freundes, Professor Ramann in München. Mit ihm habe ich die Versuche über Erziehung der Kiefern und Eichen mit Mykorhizen, aber ohne Stickstoff, ausführlich besprochen, er hat die zweckentsprechende Bodenmischung und Nährstoffzusammensetzung angegeben und nach Beendigung des Versuchs die Analysen ausgeführt, welche dem Resultat erst seine Beweiskraft verleihen, und er hat gestattet, daß ich die Ergebnisse seiner Untersuchung hier im Zusammenhang mit veröffentliche.

[1] Der Inhalt dieser Untersuchungen war zum Teil Gegenstand eines bei der Winterversammlung des Märkischen Forstvereins zu Berlin am 9. Februar gehaltenen, durch Projektionsbilder erläuterten Vortrages. Die Ergebnisse der auf Mykorhizen sich beziehenden Untersuchungen und besonders der von Professor Ramann ausgeführten Analysen konnten bei der Kürze der Zeit im Vortrag nur angedeutet werden und sind deshalb hier ausführlicher mitgeteilt.

Bei meinen im vorigen Jahrgang dieser Zeitschrift veröffentlichten Untersuchungen handelte es sich um einen Boden, dessen Profil a. a. O. Seite 202 schematisch dargestellt ist. Unter der lebenden Bodendecke aus Heidelbeeren, Preißelbeeren und Moosen fand sich in einem 100jährigen Kiefernbestande eine 8 cm starke Rohhumusschicht, darunter 4 cm eines stärker zersetzten gartenerdeartigen Humus. Beide Schichten sind mit der Hand leicht und sicher von einander zu trennen. Unter dem Humus folgten 11 cm Bleisand und dann begann der gelbe Mineralsand, der nach unten zu allmählich heller wird und in den unzersetzten Urboden überführt. In ihm fanden wir schon nesterweise dunkelbraun gefärbte, härtere Partien, die ersten Vorboten des Ortsteins. Die Frage, deren Beantwortung durch die früheren Versuche ich im vorigen Jahr zu geben bemüht war, lautete: In welcher der verschiedenen Bodenschichten, je für sich allein, zeigt die Kiefer das üppigste Wachstum? Und die eindeutige Antwort, welche nach den früheren Kenntnissen nicht wohl hätte vorausgesagt werden können, ergaben die Versuche: in dem torfig faserigen Rohhumus finden die Kiefern alle Nährstoffe, deren sie zu üppigstem Wachstum bedürfen, am reichlichsten und besten. In dem darunter liegenden mullartigen Humus ist der Kiefernwuchs stets geringer; noch schlechter wachsen die Kiefern in dem Bleisande und am allerschlechtesten in dem gelben Mineralsande, obwohl wir von ihm wissen, daß er die an aufnehmbaren mineralischen Nährstoffen reichste Bodenschicht darstellt. In einer Zahlentafel gab ich im vorigen Jahre eine Übersicht über die durchschnittliche, in den verschiedenen Böden von den Kiefern erreichte Höhe; ich bringe nun dieselbe Übersicht, ergänzt durch die weiteren Ergebnisse des verflossenen Jahres, und wir überzeugen uns leicht, daß eine Bestätigung der vorher festgestellten Reihenfolge der Böden nach ihrem Werte für die Kiefernerziehung sich herausstellt.

Die durchschnittliche Länge der Kiefern in Zentimetern betrug

	im Rohhumus	im Humus	im Bleisand	im Ortstein	im gelben Sande	im Urboden
Beim I. Versuch 1900—1901						
Am Ende des ersten Jahres (gemessen bis zu den Nadelspitzen)	9,4	6,1	4,1	—	3,5	—
Am Ende des zweiten Jahres (gemessen bis zur Triebknospe) . .	15,0	11,7	5,8	—	4,3	—
Beim II. Versuch 1901—1902						
Am Ende des ersten Jahres (gemessen bis zu den Nadelspitzen)	8,2	5,9	4,2	—	3,5	—
Am Ende des zweiten Jahres (gemessen bis zur Triebknospe) . .	14,8	10,3	7,0	—	5,0	—
(gemessen bis zu den Nadelspitzen)	24,1	18,0	12,6	—	9,4	—
Beim III. Versuch 1902—1903						
Am Ende des ersten Jahres (gemessen bis zu den Nadelspitzen)	7,0	6,0	2,75	3,7	3,0	3,0

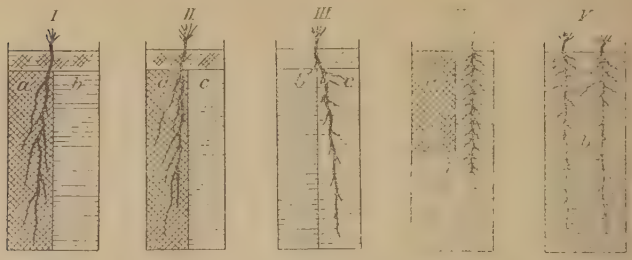
Die dritte im Jahre 1902 angelegte Versuchsreihe wurde mit einem Boden ausgeführt, welcher von den beiden früheren etwas abweicht. Die Rohhumusschicht war hier stärker entwickelt, der Bleisand heller, ins weiße spielend, d. h. durch längere Zeit und intensivere Wirkung ausgewaschen, und unter dem Bleisand fand sich eine typisch entwickelte Ortsteinschicht. Die Versuche, welche in Kästen von derselben, schon beschriebenen Art ausgeführt wurden, bestätigten die früheren Ergebnisse für den Rohhumus und Humus. Der hier vorliegende, fast weiße Bleisand hingegen erwies sich ärmer an Nährstoffen und ungünstiger für die Kiefern, als irgend eine vorher zur Prüfung gekommene Bodenschicht. Die durchschnittliche Höhe der auf ihm erwachsenen, kümmerlichen Kiefernjährlinge betrug nur 2,7 cm. Es wurde nun der darunter in fester, etwa 15 cm starker Schicht liegende Ortstein nach Möglichkeit zerkleinert und mit diesem Boden ein Versuchskasten gefüllt, und es zeigte sich, daß dieser Ortstein, nach Maßgabe der in ihm aufgespeicherten, aus den oberen Schichten heruntergewaschenen Stoffe, eine kräftigere Kiefernvegetation produzierte als der überliegende Bleisand.

Daß zwischen Bleisand und Bleisand noch gewaltige Unterschiede in der Fruchtbarkeit für Kiefern liegen können, wird keinen Sachverständigen Wunder nehmen. Es kommt eben immer darauf an, unter welchen besonderen Umständen, zumal unter was für einer Rohhumusdecke der Bleisand entstanden ist. Die verhältnismäßig günstige Wirkung des zerkleinerten Ortsteins wird völlig erklärlich, wenn wir die Ramannschen Ortstein-Bodenanalysen nachsehen. Ramann fand in der Oberförsterei Hohenbrück in Pommern (vergl. Forstliche Bodenkunde, Seite 237):

Bestandteile	im Bleisand über dem Ortstein	im Ortstein	im gelbbraunen Sande unter dem Ortstein
Organische Substanz	1,05 %	7,28 %	—
Phosphorsäure (löslich)	0,0059	0,2966	0,0281
Insges. an löslichen Mineralstoffen	0,1646	2,0744	0,8950

Die Zahlen stehen in einer geradezu überraschenden Übereinstimmung mit den vorher für den III. Versuch 1902/03 ermittelten Resultaten des Kiefernwachstums.

Wie sich nun die Kiefernwurzeln und das Kiefernwachstum überhaupt in den verschiedenen Bodenschichten verhalten, wenn man diese Bodenschichten in wechselnder Weise zum Versuche übereinanderschichtet, haben wir im vorigen Jahre gesehen. Meine neuen Versuche gingen zunächst darauf hinaus, das Verhalten der Wurzeln zu prüfen, wenn ihnen die verschiedenen Bodenarten nebeneinander, gewissermaßen zur Auswahl, dargeboten werden. Ich führe hier eine schematische Darstellung des Ergebnisses vor:



Größte Pflanze .	8,5	10,0	5,0	6,5	4,0 cm
Kleinste = .	2,5	4,0	3,0	2,5	2,0 =
Durchschnitt . .	6,1	7,3	3,4	5,0	3,0 =

a = Rohhumus b = Gelber Sand c = Bleisand

Meine Versuchskästen (s. Tafel I der vorjährigen Arbeit) waren so eingerichtet, daß am Ende einer Vegetationsperiode, nach Entfernung der einen Schmalwand, die Wurzeln der dieser Wand zunächst stehenden Pflanzen seitlich völlig freigelegt und der Beobachtung zugänglich gemacht werden können, ohne die übrigen, in dem Kasten befindlichen Pflanzen im geringsten zu stören. Die für den vorliegenden Versuch bestimmten Kästen waren der Länge nach durch eine Glaswand geteilt, welche also, von der Schmalseite gesehen, in unserm Schema als senkrechte Linie erscheint. Die Glaswand reichte nicht ganz bis zur Bodenoberfläche hinauf, vielmehr wurde überall zu oberst eine 2 cm starke Schicht aus den beiden Bodenarten gemischt, welche weiterhin der Kasten gesondert in den beiden Abteilungen enthielt.

Der erste Kasten ist auf der einen Seite mit Rohhumus, auf der andern mit gelbem Sande gefüllt. Das Samenkorn ist in die Mitte der dünnen, aus beiden Bestandteilen gemischten Schicht gelegt. Sowie das Würzelchen $1\frac{1}{2}$ cm eingedrungen war, mußte es sich entscheiden über seine weitere Richtung. Man sieht, daß es dem Humus gefolgt ist, daß auch die ganze weitere Wurzelentwicklung nur im Humus stattgefunden hat. Diese Wurzeln tragen den früher von mir schon festgestellten Charakter der Humuswurzeln, sie sind mit langen, glatten, verhältnismäßig wenigen Seitenzweigen besetzt und völlig frei von ektotrophen Mykorhizen.

Bei dem zweiten Kasten ist statt des gelben Sandes Bleisand verwendet, und auch hier ist die Wurzel in derselben Weise wie vorher dem Humus gefolgt. Der Bleisand ist völlig verschmäht, auch nicht ein Würzelchen ist in ihn eingedrungen. In genau denselben Bleisand aber sehen wir im dritten Bilde die Wurzel ganz und ausschließlich versenkt, weil ihr hier zur Auswahl nur der gelbe Sand gegeben wurde. Wir wissen aus den früheren Versuchen 1901 und 1902, daß dieser auch hier verwendete Bleisand ein besseres Wachstum der Kiefern lieferte als der gelbe Sand, doch war der Wert beider Böden nur recht wenig verschieden; beide waren schlecht, nur um 6 bis 7 mm übertraf die durchschnittliche Höhe der Kiefern im Blei-

sande diejenige der im gelben Sande erzogenen. Es ist gewiß bemerkenswert, daß die Kiefernwurzel ein so feines Wahlvermögen bekundet, und man kann nach den bisherigen Versuchsergebnissen sagen, daß wir in dieser Versuchsanstellung bei sorgsamer Ausführung ein sicheres Mittel haben, um den relativen Wert zweier Bodenarten für die Kiefernerziehung durch die Kiefer selbst zuverlässiger als durch irgend welche physikalische oder chemische Untersuchungen feststellen zu lassen.

Auch die hier zusammengestellten Versuche mit den darunter angegebenen Maßen bestätigen die früher festgestellte Tatsache, daß die Kiefern im Humus kräftiger als im Bleisand, in diesem kräftiger als im gelben Sande gedeihen.

Vielleicht das merkwürdigste Ergebnis stellt der vierte Kasten dar; hier reicht die Glaswand nur bis zur halben Tiefe, im oberen Teile des Kastens befindet sich auf der einen Seite Humus, auf der andern gelber Sand, mit dem im übrigen auch die untere Hälfte des Kastens ganz gefüllt ist. Die Kiefer ist nur in den gelben Sand gesäet; ihre Wurzeln sind, wie man sieht, mit dem Humus garnicht in Berührung gekommen, und dennoch sind diese Kiefern den in reinem gelben Sand erwachsenen (Nr. V) ganz auffallend und unverkennbar überlegen, wie die angegebenen Zahlen erweisen. Die Erscheinung wird dadurch zu erklären sein, daß wertvolle Nährstoffe aus dem Humus ausgewaschen und der Kiefernwurzel zur Verfügung gebracht sind. Hierdurch dürfte es sich auch erklären, daß die Wurzeln dieser Kiefern kürzer sind als die der weniger kräftigen, im reinen gelben Sand erwachsenen, welch letztere den Boden des Kastens schon im ersten Jahre stets erreichten.

Die überraschend günstige Wirkung, welche der Rohhumus unserer Kiefern-Altholzbestände auf das Wachstum der ein- und zweijährigen Kiefern so zweifellos ausübt, gilt es nun auf ihre Gründe zu untersuchen. Die nächstliegende Erklärung, auf welche ich auch verschiedentlich von befreundeter Seite hingewiesen bin, bietet sich in der physikalischen Verschiedenheit eines solchen Humus- und eines Sandbodens. Einen mit Humus gefüllten Versuchskasten kann ich leicht tragen, einen mit Sand gefüllten nur mühsam schleppen. Schlagen wir bei Wollny nach (Die Zersetzung der organischen Stoffe und die Humusbildungen; Heidelberg 1897, Seite 241 bis 242), so finden wir das spezifische Gewicht des Humus zu 1,462, das des Sandes zu 2,622, das Volumgewicht des Humus aber zu 0,3349 und das des Sandes zu 1,4485 angegeben. Daß also der Humus eine ganz andere Durchlüftung hat als der Sand, ist klar, daß seine Wasserkapazität doppelt so groß, ist ebenfalls bekannt. Bekannt ist auch, daß er sich langsamer erwärmt und abkühlt und die Temperaturextreme mäßigt. Dennoch führten mich die vielfachen, fast täglich beobachteten Versuche immer wieder auf die Vermutung, daß trotzdem den chemischen Verschiedenheiten wohl die größere Bedeutung beizumessen sei. Angenommen, diese Vermutung wäre richtig, so kann es sich hier von allen Pflanzennährstoffen nur um den Stickstoff

handeln, weil alle mineralischen Nährstoffe, wie wir aus den zahlreichen Ramannschen Analysen wissen, in unserm gelben Sande, der Verwitterungszone des Bodens, reichlicher als in den auflagernden Schichten zur Verfügung stehen. Um über diese Frage, welche mit derjenigen nach der Bedeutung der Mykorhizenbildung im engsten Zusammenhange steht, ins Klare zu kommen, stellte ich drei verschiedene Versuche an.

Der erste Versuch sollte zeigen, wie sich die Kiefern verhalten bei vollständigem Fehlen der Stickstoffnahrung, er sollte also die typischen Erscheinungen des Stickstoffhungers der Kiefern zum Ausdruck bringen.

Der zweite Versuch sollte zeigen, inwieweit die ungünstige Wachstumsleistung der Kiefer im gelben Sande nur durch Zugabe leicht aufnehmbarer Stickstoffnahrung gebessert werden könne.

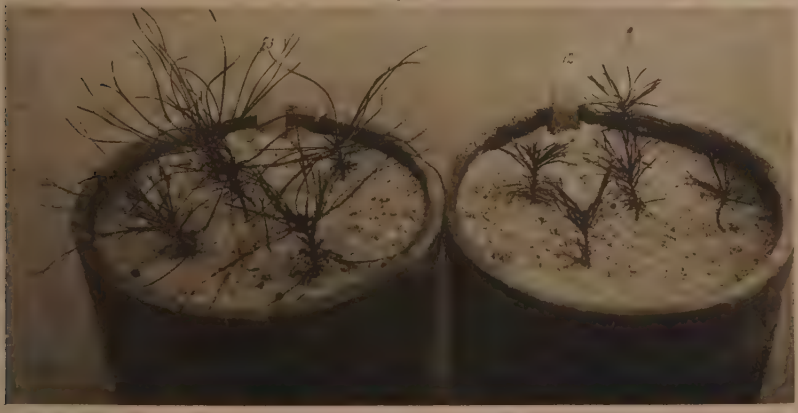
Der dritte Versuch sollte zeigen, wie die Kiefern sich in einem Substrat entwickelten, welches zwar möglichst die gleiche physikalische Beschaffenheit wie der Rohhumus, aber ungünstigere Nahrungsverhältnisse bot.

Der erste Versuch, welcher zugleich bestimmt war, noch eine andere, auf die Funktion der Mykorhizen gerichtete Frage zu beantworten, wurde in großen, zu dem Zwecke angefertigten Blumentöpfen von 40 cm Höhe angestellt. Die Topfscherben wurden untersucht und stickstofffrei befunden. Die Füllung erfolgte mit gereinigtem, ziemlich grobkörnigem Tertiärsand aus Freienwalde, der ebenfalls durch Professor Ramann auf Stickstofffreiheit geprüft worden ist. Auf je 1 kg Boden wurden 2 g zweibasisch phosphorsauren Kalkes beigemischt; am 26. April wurde jeder Topf mit je fünf möglichst gleich entwickelten einjährigen Kiefern bepflanzt, nachdem deren Wurzelsystem durch mehrstündiges Verweilen unter dem Strahl der Wasserleitung von anhaftenden Bodenteilen völlig gereinigt war. Die Töpfe wurden im Freien aufgestellt, doch so, daß sie vor Regen durchaus sicher geschützt waren. Bis zum 12. November wurden zwei Töpfe täglich nach Bedarf gegossen mit einer Lösung, welche 0,25 g Chlorkalium und 0,50 g kristallisierte schwefelsaure Magnesia in 20 l reinen, auf Stickstofffreiheit geprüften destillierten Wassers enthielt. Ein dritter Topf wurde außerdem mit einer Lösung von 1 g reinem salpetersaurem Natron in 5 l destilliertem Wasser begossen, ohne ihn aber in Hinsicht auf die zugeführte Wassermenge vor den andern zu begünstigen. Bis Ende Mai etwa war zwischen den Kiefern der drei Töpfe irgend ein Unterschied nicht zu entdecken. Man darf annehmen, daß bis zu diesem Zeitpunkte die in den Pflanzen vorhandenen Reservestoffe genügten, um die erste, vollkommen gleichmäßige Nadelentwicklung aus den Knospen zu bestreiten. Dann aber begann ganz allmählich und noch einige Wochen lang kaum merklich ein Farbenunterschied aufzutreten, der die stickstofffreien Kiefern blasser erscheinen ließ. Allmählich wurden dann auch die Nadeln der Stickstoffkiefern immer kräftiger und länger bei gleichzeitiger kräftiger Entwicklung der Spitzknospe, während die andern Kiefern still zu

Fig 1

Fig 2

Fig 3.



r von Julius Springer

stehen schienen. Schon im August war der Unterschied der Pflanzen für jeden Laien in die Augen springend. Im September steigerten sich die Unterschiede noch erheblich, und am 14. Oktober wurde die Photographie Tafel II, Fig. 3 aufgenommen, welche den einen stickstofffreien und den mit Stickstoff gedüngten Topf allerdings leider nur der Form und nicht der Farbe nach darstellt. Die Farbe der langen Blätter der Stickstoffkiefern war kräftig dunkelgrün und nur wenige der allerunterſten ersten Blättchen waren gebräunt, die Stämmchen und besonders die Triebknospe kräftig entwickelt. Dahingegen waren die stickstofffreien Kiefern hellgelb bis blaugrün, viele Blättchen waren gebräunt und vertrocknet, die Stämmchen nur halb so stark und die Triebknospe verkümmert. Von den Ergebnissen der Analyse dieser Versuchspflanzen wird weiterhin noch zu sprechen sein. Hier genügt es, die äußere Erscheinung des Stickstoffhungers der Kiefer zu beobachten. Wir überzeugen uns davon, daß der Unterschied, welcher durch Fehlen oder Vorhandensein der Stickstoffnahrung sich herausstellt, durchaus demjenigen entspricht, welchen unsere in Humus erzogenen Kiefern den in reinem gelbem Sande kultivierten gegenüber aufweisen.

Der zweite Versuch wurde in meinen gewöhnlich angewendeten Versuchskästen ausgeführt. Ich füllte zwei Kästen am 18. April gleichzeitig mit demselben gelben Sande, der auch zu den übrigen Versuchen Verwendung gefunden hatte, und besäete sie je mit einer Doppelrille. Nach dem Auflaufen wurde die Zahl der Sämlinge in beiden Kästen gleichgemacht; in jedem stehen 34 Pflanzen. Einen Tag um den andern und bei trocknem Wetter täglich wurde nun der eine Kasten mit einer Lösung von 1 g salpetersaurem Natron auf 5 l Wasser, der andre stets mit der gleichen Menge reinen destillierten Wassers begossen. Genau wie in dem vorher beschriebenen Versuche traten die Unterschiede in der Entwicklung der beiderlei Pflanzen nur allmählich in die Erscheinung, sie steigerten sich dann vom Juli ab deutlich werdend mehr und mehr, und gegen das Ende der Vegetationsperiode in immer zunehmendem Maße bis zu dem Betrage, welchen die Photographie Tafel II, Fig. 2 darstellt. Um diese zu ermöglichen, wurden die Kästen an Ort und Stelle von oben her, aus der Vogelperspektive aufgenommen, und die Pflanzen, damit sie sich vom Erdboden besser abhöben, mit weißem Papier unterlegt. Die Unterschiede, welche wir wahrnehmen, sind dieselben, wie sie im vorigen Versuche hervortraten. Die Pflanzen, denen Stickstoff geboten wurde, sind sämtlich frisch grün und reich benadelt. Eine der besten hat z. B. 50 Nadeln von durchschnittlich 2,5 cm Länge, die beste in dem Nachbarkasten dagegen nur 20 Nadeln von 1,5 cm. Hier zeigen fast alle Pflanzen eine mehr oder weniger gelbliche bis rötliche Verfärbung, keine einzige ist wirklich frischgrün zu nennen. Die kräftigen Kiefern aber, die in dem reinen gelben Sande gezogen sind und nur durch Stickstoffzufuhr gefördert wurden, haben zwar an Größe und Länge der Nadeln nicht ganz die im Humusboden erwachsenen

Versuchskiefern erreicht. Ihre üppig grüne Farbe unterscheidet sie von jenen aber nicht im geringsten, und es ist hiernach der Schluß wohl naheliegend und nicht zu kühn, daß die staunenswerte Förderung, welche das Kiefernwachstum im Humus und noch mehr in der Rohhumusschicht erfährt, auf die ihm dort gebotene, im Sande nicht zur Verfügung stehende, reichere Stickstoffnahrung zurückzuführen ist. Die angewendete Stickstofflösung war von Ramann mit Vorbedacht außerordentlich dünn angeordnet. Ich habe fast keinen Zweifel, daß es im nächsten Jahre gelingen wird, durch reichere Stickstoffzufuhr in demselben gelben Sande die Kiefern noch üppiger zur Entwicklung zu bringen, sie vielleicht den Rohhumuskiefern gleich zu machen. Mag aber auch dann noch eine Differenz in der Wuchsleistung übrig bleiben, die man der besseren physikalischen Beschaffenheit des Humus zuzuschreiben geneigt sein wird, so viel ist doch sicher, der Humus, auch der böse Rohhumus, ist eine wichtige, eine Stickstoffnahrungsquelle unserer Kiefern. Und hierin bestärkt mich der Ausfall meines dritten Versuchs.

Um ein dem Rohhumus an physikalischer Beschaffenheit möglichst ähnliches, aber an Nährwert minderwertiges Substrat zu gewinnen, verwendete ich den gepreßten Torf, wie er in den bekannten großen Ballen in den Handel kommt und vielfach zu Streuzwecken und zur Füllung der Decken in den Häusern gebraucht wird. Der Torf wurde mit der Hacke zerkleinert und erst einmal gründlich angefeuchtet, dann zur Füllung von Versuchskästen, -töpfen und Beeten verwendet. Die Kiefern gingen darin gut und kräftig auf, und ihre erste Entwicklung schien derjenigen im Rohhumus wenig nachzugeben; allein sehr bald trat ein Rückschlag ein, und im Herbst sahen die Torfmullkiefern so dürftig aus, daß sie für das zweite Jahr wenig Hoffnung geben und den kraftstrotzenden Rohhumuskiefern nicht von ferne mehr vergleichbar sind.

Ramanns Analyse der benutzten Böden ergab für den

	Torf	Rohhumus
Verbrennbare Substanz	97,95 %	40,87 %
Stickstoff	0,670 =	0,833 =
Kalk	0,440 =	0,205 =
Kali	0,041 =	0,0025 =
Phosphorsäure . . .	0,038 =	0,1085 =

Bezogen auf die verbrennbare (organische) Substanz ergibt dies:

Stickstoff	0,674 %	2,04 %
Kalk	0,442 =	0,509 =
Kali	0,041 =	0,0071 =
Phosphorsäure . . .	0,038 =	0,27 =

Das Ergebnis steht jedenfalls nicht in Widerspruch mit der Annahme, daß der Torf eine schlechtere Stickstoffquelle für die Kiefern liefert als unser Rohhumus, zumal seine Zersetzung schwieriger und langsamer vor sich geht als die des Humus (Wollny, Seite 221). Wohl könnte man den Erfolg

auch auf den geringeren Phosphorsäuregehalt des Torfes zurückführen und annehmen, daß wegen dieses Mangels die gute physikalische Beschaffenheit des Torfbodens nicht hätte zur Wirkung kommen können. Es werden daher weitere inzwischen schon eingeleitete Versuche sich darauf richten, festzustellen, ob auch nach Zusatz von Phosphorsäure der Torf eine viel geringere Kiefernvegetation liefern wird als der Rohhumus.

Ich schließe aus den bisher mitgeteilten Versuchen, daß die physikalische Beschaffenheit des Rohhumus nicht in erster Linie der Grund ist für seine hervorragenden Leistungen bei der Kiefernerziehung. Dieser Grund liegt vielmehr darin, daß dieser Rohhumus, vor Austrocknung geschützt und in der Verwesung förderliche Verhältnisse gebracht, der Kiefer eine bessere Stickstoffernährung bietet als irgend eine andere Schicht des untersuchten Bodens. Ob die Stickstoffnahrung, welche die Kiefer aus dem Rohhumus bezieht, ihr durch die vermittelnde Tätigkeit von Bakterien oder von mykorhizenbildenden Fadenpilzen zugänglich wird, ist eine vorläufig offene Frage. Wir werden weiterhin sehen, daß die Mykorhizen mit der Stickstoffzufuhr aller Wahrscheinlichkeit nach nichts zu tun haben. Die Tatsache aber steht fest, daß der Humus und ganz besonders der Rohhumus die wertvollste Stickstoffnahrungsquelle darstellt, welche wir im Walde zur Verfügung haben. Auf dieser Tatsache beruht in viel höherem Grade als auf den vortrefflichen physikalischen Eigenschaften der längst bekannte Wert des Humus als Düngemittel der Kiefernsaat- und Verschulbeete auf unserm Sandboden. Schon in meiner vorjährigen Mitteilung (Seite 201) habe ich darauf hingewiesen, wie auf den durch tiefes Umgraben hergestellten Saatkämpen in unserm Sandboden oftmals einzelne Pflanzen oder Gruppen von Pflanzen von dem Durchschnitt sich durch besonders dürftige, andere sich durch besonders kräftige Entwicklung abheben. Gräbt man vorsichtig nach, so findet man, daß die ersteren mit ihrem gesamten Wurzelsystem in reinem Sande stehen, während die letzteren mit den eingemischten Humusteilen in Berührung gekommen sind. Diese Beobachtung habe ich zu vielen Malen nachträglich bestätigt. Sie zeigt die düngende Wirkung des Humus handgreiflich. Aber auch schon die bloße Nähe einer gewissen Humusmenge wirkt in ähnlicher Weise, wie der Versuchskasten 4, Seite 261, uns gezeigt hat. Hier kann die physikalische Beschaffenheit des Humus schon zur Erklärung nicht mehr genügen. Es sind offenbar Stickstoffverbindungen aus dem Humus dem Sande durch das Regenwasser zugeführt. Eine überraschende Bestätigung dieser Tatsache lieferte ein weiterer Versuch des Jahres 1902.

Dicht nebeneinander, durch einen Steg von 40 cm Breite getrennt, hatte ich zwei je 1,20 m breite Beete angelegt. Das eine war nach Entfernung nur der lebenden Bodendecke mit der losesten Streu auf 40 cm Tiefe durchgegraben und dann mit Kartoffelhacken so durchgehackt, daß eine völlig gleichmäßige Mischung der Humusschicht mit dem unterliegenden Sande erfolgte. Von dem zweiten

Beete war aller Humus samt der Bleisandschicht entfernt und das Beet ausschließlich mit dem gelben Sande gefüllt und eingeebnet. Auf beiden Beeten wurden am gleichen Tage einjährige Kiefern gleicher Herkunft verschult. Das Austreiben der Kiefern erfolgte zunächst auf dem Sande mindestens ebenso gut und kräftig, als auf dem mit Humus gemischten Boden. Auch dies ist eine wiederholt von mir bestätigt gefundene Wahrnehmung. Die Erklärung ist meines Erachtens folgende: Das Austreiben der Kiefer, die Bildung der neuen Nadeln, die ganze Entwicklung bis zum Juli hin erfolgt auf Kosten der in der Pflanze vorhandenen Reservestoffe, sie erfolgt bei genügender Feuchtigkeit und Wärme auch in völlig nährstoffarmem Boden. Für diese erste Wachstumsperiode ist mithin die bessere Stickstoffnahrung aus dem Humus ohne Bedeutung. Später, vom Juli ab erst, wurden die Unterschiede beider Beete dadurch beeinflußt in genau derselben Weise, wie wir das schon in den Versuchstöpfen und -Kästen kennen gelernt haben. Während die Kiefern auf dem gewühlten Boden immer kräftiger dunkel ergrünten, zeigten diejenigen auf dem Sande eine je länger, desto mehr von jenen abstechende hellgrüne, ins gelbliche gehende Verfärbung. Dabei war aber eine höchst auffällige Erscheinung bis zum Oktober immer deutlicher geworden. Wenn ich mit 1 die Kiefern bezeichne, welche am 10. Oktober, nach den ersten Nachtfrösten, noch völlig kräftig grün waren, mit 2 die gelbbraun verfärbten, mit 3 die rotspitzigen, mit 4 die schlechtesten, braunrötlich gewordenen und mit 0 die Fehlstellen, so zeigte mein Beet die in folgendem dargestellte Erscheinung:

Steig mit Humusdecke						
1	1	1	1	1	1	1
1	1	1	1	3	1	3
3	2	1	3	4	4	0
4	3	3	4	3	3	2
2	3	1	4	3	3	3
2	2	4	2	3	3	3
0	1	1	1	1	1	1
Steig mit Humusdecke.						

Man sieht, daß alle Randkiefern frischgrün waren, genau so grün, wie alle Kiefern auf dem daneben liegenden, mit Wühlboden versehenen Beete, und dies ist zurückzuführen auf den starken Humusbelag der beiden Steige, der unberührt geblieben war. Dort, wo links oben zwei Reihen der Randkiefern grün sind, ist die äußerste durch eine Ungenauigkeit der Verschularbeit besonders nahe an den Humusrand geraten.

Wenn ich nun aus dem bisherigen den Schluß ziehe, daß die Kiefernwanderkämpe in unserm märkischen Sande — von den schlechtesten, allerärmsten Sandböden abgesehen — vor allem und in sehr vielen Fällen ganz allein nur eine Stickstoffdüngung nötig haben, welche wir ihnen am besten

in Form der Rohhumus- und Humusdüngung bieten, so stelle ich mich in einen scheinbaren Gegensatz zu den Ergebnissen der ausgezeichneten Untersuchungen, welche schon vor 24 Jahren Schütze im 10. Bande dieser Zeitschrift, Seite 51, „Über den Aschengehalt einjähriger Kiefern und über die Düngung der Kiefernsaatbeete" veröffentlicht hat. Schütze kam auf Grund der im hiesigen Forstgarten angestellten, umfangreichen Düngungsversuche bezüglich der Wirkung des Natronsalpeters zu einem ziemlich negativen Resultat. „Im zweiten Versuchsjahr schon", sagte er, „hätte er kaum irgend welche Wirkung davon beobachtet, im dritten hätten zwei Flächen eine günstige, zwei andere eine ungünstige Wirkung gezeigt." Als vorsichtiger und sorgsamer Forscher aber fügte er hinzu, „bei weniger humusreichen Böden wird möglicherweise ein Zusatz von Natronsalpeter mehr Erfolg haben." Und ganz besonders wichtig erscheint mir die weitere Bemerkung (a. a. O. S. 62): „Ein Zusatz von Walderde[1]) scheint dagegen die Wirkung der kondensierten Düngemittel zu erhöhen."

Wenn ich nun in sicherster Weise mich von der ganz vorzüglichen Wirkung des Natronsalpeters auf den Kiefernwuchs überzeugen konnte, so ist auch der Grund dieses von Schütze abweichenden Ergebnisses leicht zu erkennen. Meine Kiefern wurden nach Ramannscher Vorschrift während der ganzen Vegetationsperiode nahezu täglich mit einer äußerst verdünnten Lösung von Natronsalpeter (1 g auf 5 l) begossen, während Schütze seine Beete vor der Aussaat mit 4 Zentner Natronsalpeter pro Hektar düngte. Nun wird aber der Chilisalpeter ganz außerordentlich schnell ausgewaschen und den Wurzeln unerreichbar, und es ist daher nicht zu verwundern, daß er im zweiten Jahre keine Wirkung mehr ausüben kann. Sodann ist aber zu berücksichtigen, daß bei Schützes Versuchen viel zu humusreiche Böden zur Verwendung kamen, als daß die Wirkung der Stickstoffdüngung hätte deutlich werden können. Chilisalpeter, besonders wenn er in mehrfach wiederholten kleinen Gaben während der Vegetationszeit geboten werden kann, wird bei Stickstoffmangel auch von der Kiefer vortrefflich verwertet. Der Rohhumus aus Altholzbeständen aber liefert für unsere Kämpe eine viel bessere, länger vorhaltende Stickstoffdüngnng; dazu kommt seine vortreffliche physikalische Wirkung, wenn er, entsprechend zerkleinert, dem Boden beigemischt wird.

Ich schließe hieraus, daß in unsern märkischen Kiefernrevieren und vielleicht noch in manchen darüber hinaus liegenden, wenn sie Kiefernaltholzbestände haben und ihre Kiefern in Wanderkämpen zu erziehen gewohnt sind, die Verwendung künstlicher Düngemittel für diese Kämpe im allgemeinen vollständig überflüssig, die richtige Düngung der Kämpe mit Humus dagegen eine

[1]) Schütze unterschied die beiden in unsern Beständen leicht trennbaren Schichten, welche ich hier als Rohhumus und Humus auseinanderhalte, und nannte die untere, erdige Humusschicht: Dammerde.

Notwendigkeit ist, die geradezu vorgeschrieben sein sollte [1]). Ein Kiefernkamp, dessen Oberfläche auf 15 cm Tiefe aus reinem Sande besteht — in dem allerdings sich die Beete sehr schön harken und sehr regelmäßig besäen lassen — müßte meines Erachtens als ein nachweisbarer Fehler, der durch keinerlei „Ansicht" oder „besondere örtliche Verhältnisse" gerechtfertigt werden kann, gerügt werden. Bei Wanderkämpen macht die Beschaffung des Humus keine Schwierigkeiten; aber auch bei ständigen Kämpen, wo unter Umständen selbstverständlich auch andere künstliche Düngung angezeigt sein kann, ließe sie sich wohl durchführen, und ich will hier nur auf den Vortrag des Forstmeisters Dr. Kienitz: „Der Humus als Dungstoff im Walde" hinweisen (Bericht über die III. Hauptversammlung des Deutschen Forstvereins, Leipzig 1902).

Ich ziehe nun aus den bisherigen Ergebnissen der Versuche noch eine weitere waldbaulich praktische Folgerung: Die Methode der Kiefernbestandsbegründung auf Kahlschlägen durch Waldpflugfurchensaat ist außerordentlich schlecht, ja fast widersinnig zu nennen, da sie die für die jungen Kiefern wertvollsten Bestandteile des Bodens zur Seite wirft, wo sie austrocknen und unnutzbar werden, während das Saatkorn gerade auf diejenige Bodenschicht gebracht wird, welche nach den vielfachen Versuchen nur die kümmerlichste Entwicklung der Pflanzen zuläßt. Die genannte Methode hat einen, aber auch eben nur ganz allein diesen einen Vorzug, das ist ihre relative Billigkeit. Gegen diese meine Behauptung wurde mir nun nach Schluß meines Vortrags im Märtischen Forstverein in der Unterhaltung ein Einwurf gemacht, der sehr erwähnenswert ist, weil seine Besprechung gerade den Hauptpunkt, auf den es bei der Humusverwertung ankommt, ins rechte Licht rückt. Es wurde gesagt, meine Beurteilung der Waldpflugfurchensaat werde durch das auf Seite 261 mitgeteilte Ergebnis des vierten Versuchkastens widerlegt. Dort zeige sich ja, daß auch der neben die Pflanze gelagerte Humus, mit dem ihre Wurzeln garnicht in Berührung getreten sind, seine günstige Wirkung ausgeübt habe. Warum sollte also der durch Waldpflug neben die Saatstreifen gelagerte Humus nicht ebenso wirken? Hierauf ist nun zu erwidern, daß der Humus in meinem Versuchskasten feucht blieb und sich in der Verwesung günstigen Umständen befand, während der Humus auf den Balken der Pflugfurchenkultur austrocknet, torfig pulvrig wird und damit in einen Zustand übergeht, der ihn für den Pflanzenwuchs wertlos macht. Tier- und Pilzleben in ihm hört auf, die Verwesung ist gehemmt und noch nach vielen Jahren liegen die Rohhumusplaggen, welche der Wald-

[1]) Daß unter Umständen daneben auch Thomasschlacke mit Vorteil angewendet werden kann, wie Herr Forstmeister Schultz (1902, Seite 297 dieser Zeitschrift) empfiehlt, soll noch nicht bestritten werden, doch neige ich allerdings zu der Vermutung, daß bei richtiger Humusdüngung eine weitere Zufuhr von phosphorsäurehaltigem Dünger immer für Wanderkämpe — entbehrlich ist.

pflug zur Seite warf, unverändert und ungenutzt. Keine Kiefer keimt darauf, und wenn ja solche Keimlinge bei günstiger Witterung sich dort einfinden, so gehen sie bald wieder zu Grunde. Nehme ich aber denselben Humus und mische ihn zerkleinert dem Sandboden bei, so erziele ich eine ausgezeichnete Kiefernentwicklung. Ausgetrocknet auf der Oberfläche des Bodens vermag der Rohhumus die in ihm wohnenden Kräfte zur Förderung des Kiefernwachstums nicht zur Entfaltung zu bringen. Tief untergegraben und mit Sandboden überdeckt, vermag er es ebenfalls nicht oder nur in geringerem Grade, zerkleinert und dem Boden gleichmäßig beigemischt, wird er zu unserm wertvollsten Dünger. Auf dieser nun durch viele Versuche und durch die Erfahrung (vgl. den oben erwähnten Kienitzschen Aufsatz) bestätigten Erwägung beruht die gute Wirkung des Spitzenbergschen Wühlspatens.

Die weitere Erprobung dieses ausgezeichneten Werkzeugs gehörte zu meinem Arbeitsprogramm, und ich kann aus dem letzten Jahre die Ergebnisse zweier Versuche mitteilen, welche die Vorzüge der Wühlspatenlockerung zweifellos erweisen und außerdem das vorher über den Humus Gesagte weiter bekräftigen.

Ich füllte im Frühjahr 1902 zwei meiner Versuchskästen an demselben Tage mit genau demselben Boden, nämlich jeden zu $^1/_3$ mit Humus und zu $^2/_3$ mit Bleisand. In dem einen Kasten wurde der Humus zu unterst, der Bleisand darüber gelagert, in dem andern wurden dieselben Materialien gleichmäßig durchmischt in derselben Weise, wie es auf den Pflanzplätzen der Wühlspaten besorgt. Der Unterschied der in den beiden Kästen erzogenen Saatkiefern war, wie die folgende Tabelle zeigt, im ersten Jahre nur gering, steigerte sich aber im zweiten Jahr zu beträchtlicher Größe. Die Färbung der Pflanzen des gemischten Bodens war sichtlich grüner und weniger gelblich als die der andern.

In dem Kasten mit	gemischtem	geschichtetem Boden
maß die größte Pflanze 1901:	8,0 cm	7,5 cm
= = kleinste = 1901:	2,5 =	2,0 =
= = durchschnittliche = 1901:	4,5 =	4,3 =
= = größte = 1902:	25,0 =	17,0 =
= = kleinste = 1902:	5,0 =	5,0 =
= = durchschnittliche = 1902:	13,9 =	9,7 =
betrug das Trockengewicht von je 5 mittleren Pflanzen 1902:	4,45 g	2,82 g

Die in der vorstehenden Tabelle ausgedrückten Unterschiede der Wachstumsleistung sind in der Tat erstaunlich, wenn man sich vergegenwärtigt, daß beide Versuchskästen an demselben Tage mit genau demselben Boden gefüllt und an demselben Tage besäet wurden und daß sie während der ganzen Dauer des Versuchs dicht neben einander stets unter genau gleichen Verhältnissen standen. Wir haben hier ein eindringliches Beispiel für Wert

und Bedeutung einer rationellen Bodenbearbeitung vor uns. Wenn nun schon dieser Versuch für die Beurteilung der Leistungen des Spitzenbergschen Wühlspatens zu Gunsten dieses Gerätes eine beredte Sprache führt, so trägt er doch immerhin den Charakter eines Laboratoriumsversuches. Ich habe nun einen Teil des mir jetzt zur Verfügung stehenden Versuchsgartens dem Zwecke gewidmet, wirklich beweisende und exakte Vergleichsversuche zur Prüfung der Leistung des Wühlspatens auszuführen. Daß solche Versuche in Freikulturen im großen mit Aussicht auf klare Ergebnisse nicht angestellt werden können, habe ich bereits im vorigen Jahre ausführlicher durch den Hinweis darauf zu begründen versucht, daß die Unterschiede in der Pflanzenentwicklung, welche besten Falles erwartet werden können, für derartige Versuche zu geringe sind; durch die zahllosen Zufälligkeiten in Arbeitsweise und -Ausführung, in lokalen Verschiedenheiten, selbst auf kleinen Flächen, werden sie verdunkelt, und können jedenfalls durch bloße Okularinspektion nur selten festgestellt werden. Dennoch sind diese kleinen Verschiedenheiten keineswegs gering zu achten oder bedeutungslos. In meinem Versuchsgarten, der auf einer frischen Schlagfläche angelegt wurde, habe ich nun je zwei 17 m lange Streifen von 40 cm Breite dicht neben einander angelegt; der eine ist unter sorgfältiger Kontrolle jeden Spatenstiches auf 40 cm so umgegraben, daß im wesentlichen der obere Spatenstich nach unten, der untere nach oben gelegt wurde; der andere ist vorschriftsmäßig mit dem Wühlspaten gelockert worden. Auf jedem Streifen ist eine Doppelrille der Länge nach eingedrückt und am 24. April derartig besäet worden, daß die einzelnen Körner annähernd je 1 cm von einander entfernt lagen. Auf diesen beiden, dicht neben einander verlaufenden, wirklich vergleichsfähigen Streifen ist nun die Überlegenheit der Wühlspatenlockerung über die durch Umgraben bewirkte schon im ersten Jahre zweifellos deutlich geworden. Am 10. Oktober habe ich auf je 5 laufenden Metern jedes der beiden Streifen alle Kiefern einzeln sorgfältig gemessen, und es ergab sich für die Kiefern auf dem Wühlstreifen eine durchschnittliche Größe von 5,8 cm, gemessen vom Erdboden bis zu den Nadelspitzen, wohingegen auf dem benachbarten, umgegrabenen Streifen die Durchschnittsgröße nur 3,8 betrug, d. h. also 2 cm weniger im ersten Jahre. Die größte Pflanze des Wühlstreifens hatte 10,5 cm, die des Umstülpstreifens 9,5 cm. Die kleinste Pflanze bei jenem hatte 2,5 cm, bei diesem nur 1 cm Höhe. Die Gesamterscheinung der Pflanzen in Bezug auf kräftige Entwicklung und insbesondere auf gesunde, grüne Farbe entsprach durchaus dem durch diese Zahlen ausgedrückten gegenseitigen Verhältnis. Im nächsten Jahre wird die Pflanzenzahl beider Streifen vollkommen gleich gemacht und die Beobachtung natürlich fortgesetzt werden. Will man nun etwa sagen, daß diese Unterschiede nicht viel zu bedeuten hätten, daß sie nach 3, 4, jedenfalls nach 10 Jahren sich wohl sicher würden ausgeglichen haben, so ist dem zu entgegnen, daß

wir zunächst nicht wissen, auf wie lange eine derartige günstige Beeinflussung des ersten Jugendwuchses hinauswirkt, daß aber, hiervon ganz abgesehen, jedes Mittel die höchste Beachtung verdient, welches uns in den Stand setzt, unsere Kiefern um irgend einen Bruchteil grüner, höher oder stärker in den ersten Winter zu bringen. Es ist kaum zweifelhaft, daß neben andern Gefahren auch die Schüttegefahr mit der mehr oder minder kräftigen Ausbildung der Pflanzen steigt und fällt. Gegen die Schütte der Einjährigen hilft bekanntlich die Bordelaiserbrühe noch nichts. Ich will heute noch nicht so weit gehen, zu behaupten, daß eine vollkräftig erzogene einjährige Kiefer jener Kinderkrankheit überhaupt nicht ausgesetzt sei, mit andern Worten, daß jede Schüttekalamität im Jährlingskamp einen waldbaulichen Fehler bedeute. Aber es ist mir durchaus verständlich und im Hinblick auf meine Versuchspflanzen sehr wertvoll die Beobachtung, welche Herr Forstmeister Kienitz in dem schon erwähnten Vortrage mitteilt, er habe im Frühjahr 1900 auf Waldpflugfurchen die Beobachtung gemacht, daß hier die jungen Kiefern der Schütte erlegen waren, wo der Waldpflug den Bodenüberzug bis auf den unvermischten Mineralboden abgeschält hatte, daß sie aber frisch und unversehrt standen, wo noch ein Teil der humosen Schicht erhalten geblieben war.

Zu Versuchen über die Reproduktionsfähigkeit der Kiefernwurzel dienten die beiden oben (Seite 265) schon erwähnten Parallelbeete mit Wühlboden und mit Sandboden (von dem letzteren ist das Schema Seite 260 genommen). Ich verschulte hier einjährige Kiefern zunächst mit unverletzter Wurzel, sodann wurden bei je einer Querreihe die Wurzeln gleichmäßig auf 15 cm gekürzt. Auf den beiden nächsten Querreihen behielten die Kiefern noch 14 cm und so fort mit jeder Querreihe 1 cm weniger, bis die beiden letzten Querreihen mit Kiefern bepflanzt waren, die nur noch 5 cm lange Wurzelstümpfe hatten. So glaubte ich die Grenze feststellen zu können, bei der die Reproduktionsfähigkeit aufhört; denn ich nahm nicht an, daß von den Kiefern der letzten Reihe zumal auf dem erbärmlichen Sande auch nur eine am Leben bleiben würde. In Wirklichkeit hatte ich jene Grenze noch nicht erreicht, denn von all den Kiefern auf beiden Beeten ist nur eine ausgeblieben, und die war mit unverletzter Wurzel gepflanzt; sonst sind sie alle angewachsen, und auch die letzte Reihe hat ihr verstümmeltes Wurzelsystem in glänzender Weise ergänzt. Allerdings kam die feuchte Witterung des vorigen Frühjahrs dem Versuche zu statten, sonst würde es den kürzesten Wurzeln wohl schlechter ergangen sein. Der Versuch ist vom praktischen Standpunkte aus insofern von Interesse, als er uns zeigt, daß ein Verkürzen der Wurzel an der einjährigen Kiefer in mäßigem Grade ganz unbedenklich ist. Oftmals haben die Jährlinge so lange Wurzeln, daß deren Einbringen in die Pflanzspalten ohne Stauchung unmöglich ist. In solchen Fällen sollte streng darauf gehalten werden, daß die Wurzeln bis auf etwa höchstens 20 cm Länge gekürzt werden, damit einer schlangenförmigen und gestauchten Ein-

bringung in den Boden vorgebeugt werde. Solch unnatürliche Wurzellagerung zu vermeiden, empfiehlt sich gewiß, wenn schon meine Versuche über schlechte Pflanzung gezeigt haben, daß die Kiefer zunächst das unglaublichste an Wurzelmißhandlung zu ertragen imstande ist.

Es wurden auf Pflanzstellen mit verschiedener Bodenbearbeitung einjährige Kiefern gepflanzt, zur einen Hälfte mit der größten Sorgfalt, so gut es überhaupt möglich ist, zur andern Hälfte mit künstlicher Nachahmung und Übertreibung der schlimmsten Pflanzungsfehler. So wurden z. B. die völlig entblößten Wurzeln in nassem Zustande zu einem festen Zopf gedreht, dann hin und her zu einer Knolle zusammengedrückt, die noch außerdem in der hohlen Hand zusammengeschlagen wurde. In andern Fällen wurde in den Wurzelzopf ein tüchtiger Knoten gebunden und dazu das untere Ende anstatt senkrecht horizontal gelagert. Auch noch andere Scheußlichkeiten, wie sie zwar ähnlich, aber kaum je so schlimm in der Praxis ausgeführt werden, wurden absichtlich den Kiefernwurzeln zugemutet, und das Ergebnis dieser Versuche war ausnahmslos dasselbe: Wofern zwischen Ausheben und Einpflanzen nur dafür gesorgt wird, daß die Wurzel nicht betrocknet, so wächst die einjährige Kiefer ganz genau so gut, wenn ich ihre Wurzel mit der größten Sorgfalt einbringe, wie wenn ich sie in der geschilderten Weise auf das gräßlichste mißhandle. Die Figur 5, Tafel III zeigt das Wurzelsystem einer im Frühjahr 1902 auf reinen gelben Sand gepflanzten Kiefer, deren Wurzeln vor der Pflanzung zusammengedreht und getaucht worden waren, wie vorher beschrieben. Alle von dieser Knolle frei ausstrahlenden Wurzeln sind erst im Verlauf der Vegetationsperiode des vorigen Jahres neugebildet. Die Pflanze hat sich ober- und unterirdisch vortrefflich und durchaus normal entwickelt, wie ihre Gesamtansicht (Fig. 4) deutlich erkennen läßt. Es wird mir nun wohl niemand zutrauen, daß ich aus meinen Beobachtungen den Schluß ziehen möchte, es sei ganz gleichgültig, wie man die Kiefernwurzel in den Boden bringe. Im Gegenteil, ich hoffe gerade durch die weitere Beobachtung meiner Versuchspflanzen genaue Aufschlüsse darüber gewinnen zu können, welcherlei Art die schweren Schädigungen sind, die schlechte Pflanzmethoden im Gefolge haben. Aber ein gewisser praktischer Wert ist doch schon diesen Versuchen nicht abzusprechen. Sie machen darauf aufmerksam, daß die Besichtigung einer gut aussehenden Kiefernjährlingskultur mit wenigen Fehlstellen im Juli oder August noch keinen sicheren Schluß zuläßt darauf, daß hier mit Sorgfalt gepflanzt wurde. Man kann wohl schließen, daß die zu solcher Kultur verwendeten Pflanzen zwischen Ausheben und Pflanzung gut behandelt wurden, auch etwa daß sie genügend fest, nicht aber, daß sie mit guter Wurzellage gepflanzt wurden. Über diesen Punkt können nur ausgehobene Probepflanzen Sicherheit geben.

(Fortsetzung folgt.)

Fig. 4.

Fig. 5.

Fig. 6.

Fig. 7.

A. Müller, chot. Meisenbach Riffarth & Co. Berlin

Verlag von Julius Springer in Berlin N.

Sonderabdruck aus der „Zeitschrift für Forst- und Jagdwesen“ 1903, Heft 6.
(Verlag von Julius Springer in Berlin N.)

Untersuchungen über ein- und zweijährige Kiefern im märkischen Sandboden.

(Fortsetzung.)

(Vergl. Seite 257 dieses und Seite 197 des vorigen Jahrgangs der Zeitschrift.)

Von Dr. **A. Möller.**

Unsere Kiefer (Tafel III, Figur 4) zeigt nun noch eine merkwürdige und in dieser Ausbildung seltene Eigentümlichkeit, nämlich eine ganz auffällige Knollenbildung im unteren Teile des Wurzelsystems. Diese Knolle, welche durch Figur 6 in etwa $1^1/_2$facher Vergrößerung dargestellt wird, ist eine ektotrophe Mykorhizenbildung, wie sie bei uns in solcher Mächtigkeit selten angetroffen wird. Sie besteht durchweg aus denselben charakteristischen kleinen Gabeln, wie solche (vergl. S. 206 des vorjährigen Aufsatzes) auch sonst an den in Sand erzogenen Kiefern regelmäßig auftreten; nur ist hier durch vielfache dichotomische Gabelung ein Mykorhizaknollen von erheblichem Umfang gebildet.

Die Gabelmykorhizen von heller Farbe stellen die häufigste und bekannteste Form der ektotrophen Kiefernmykorhiza dar. In unseren Figuren 4, 5 und 7 sind, zumal bei Anwendung der Lupe, solche Gabeln zahlreich zu erkennen. Untersuchen wir eine fertig ausgebildete Gabel, wie sie im Dezember und Januar vorliegt, genauer, so sehen wir, daß der Stiel der Gabel im unteren, der tragenden Wurzel nächsten Teile z. B. 350 μ Durchmesser und eine dunkle Farbe aufweist, welche durch die schwach gebräunten äußeren Rindenzellen hervorgerufen wird. Er ist hier dicht ringsum mit Wurzelhaaren besetzt und hat keinerlei Pilzmantel. Ziemlich scharf von ihm abgesetzt ist der obere Teil des Gabelstieles, welcher schon unter einer einfachen Lupe sich von ihm deutlich unterscheidet. Er ist 450 μ dick, also um $^1/_{10}$ mm dicker, hat eine hellere Farbe und eine glatte Außenseite ohne jede Spur von Wurzelhaaren. In seinem oberen Teile geht er in die beiden gleich dicken und gleich langen, etwa im rechten Winkel zu einander stehenden Gabeläste über. Jeder von beiden endet mit glatter halbkugelförmiger Wölbung. Genügend feine vollständige Längs-

schnitte, welche die ganze Gabel der Länge nach aufteilen und eine leichte Orientierung ermöglichen, gelangen mir erst, nachdem ich das Material sorgsam gereinigt, in Paraffin eingebettet, mit dem Mikrotom zerlegt hatte. Nun erkennt man leicht, daß die ganze Gabel ringsum in einen festgeschlossenen plektenchymatischen Mantel gehüllt ist, der, aus verflochtenen Pilzfäden entstanden, den Eindruck eines kleinzelligen Gewebes macht. Die Außenseite des Mantels ist glatt, lose Pilzfäden gehen von ihm kaum in die Umgebung, seine Dicke beträgt 40 bis 60, im Durchschnitt 50 μ, d. i. die Hälfte der Verdickung, welche die Mykorhiza gegenüber dem sie tragenden Wurzelzweige aufweist. Im Zentrum der Gabel verläuft ein Gefäßbündelstrang mit einigen spiralig verdickten Gefäßen. Er gabelt sich ebenfalls und seine beiden Endigungen reichen je bis zur äußeren Wölbung. In den Endzellen dieses Stranges bildet sich ein neues Meristem, wenn die Gabel nach einer Ruheperiode während der Monate Januar bis März im April ein neues Wachstum beginnt. Den Zentralstrang, der von Pilzfäden nie berührt wird, umgeben in zwei bis dreifacher Lage die großlumigen Zellen der primären Rinde. Diese Zellen, welche im Gegensatz zu den Zellen gleicher Bedeutung an nicht pilzbefallenen Wurzeln nicht gebräunt und nicht in die Länge gestreckt sind, werden vollständig eingehüllt und umschlossen von einem Pilzgeflecht, welches mit dem des äußeren Pilzmantels in unmittelbarer Verbindung steht. Jede Zelle ist ringsum von der Nachbarzelle getrennt durch ein zwischengeschobenes Pilzflechtwerk von nur 2 bis 3 μ Dicke. Dies ist, worauf Sarauw in seiner vortrefflichen Arbeit[1]) besonders hingewiesen hat, das „Hartigsche Flechtwerk". Theodor Hartig beschreibt es nämlich in seiner „Vollständigen Naturgeschichte der forstlichen Kulturpflanzen Deutschlands" in der Erklärung zu seiner Tafel 18, Fig. 9, mit folgenden Worten: „Die äußerste Umhüllung eines Saugwurzelastes im Frühjahr bildet eine aus radialen Zellen bestehende Korkschicht" (das ist der Pilzmantel), „von welcher ein durch eigentümlichen Bau der Wände ausgezeichnetes großzelliges Parenchym" (die primären Rindenzellen unter dem Einfluß der Pilzfäden) eingeschlossen

[1]) Rodsymbiose og Mycorhizer. Botanisk Tidscrift 1893. Ein Hinweis auf diese Arbeit überhebt mich der Notwendigkeit, die auf Mykorhizen sich beziehende umfangreiche Literatur im einzelnen anzuführen. Man findet sie bei Sarauw zusammengestellt und in sehr sorgsamer, gründlicher und gewissenhafter Art besprochen. Da ich selbst das Dänische nur mit großer Schwierigkeit lesen kann, so danke ich dem Herrn Verfasser ganz besonders, daß er mir durch briefliche Mitteilung und durch leihweise Überlassung zweier von ihm geschriebener deutscher Aufsätze über den gleichen Gegenstand die wichtigsten Ergebnisse seiner Forschungen zugänglich machte. Ich bitte ihn aber um Nachsicht, wenn mir trotzdem Einzelheiten entgangen sein sollten. Die gleiche Nachsicht möge auch Herr Dr. P. E. Müller walten lassen, wenn ich seine mir gütigst übersandte Schrift „Om Bjergfyrrens Forhold til Rødgranen i de Jydske Hedekulturer" nicht so eingehend würdigen kann, wie ich es wünschte.

wird. Es zeigen hier nämlich die Zellenhäute ein dem Blattadernetze ähnliches, anastomosierendes Geflecht, welches ich für das Bild verästelter, den ganzen Umfang der Zelle umgebender Intercellulargänge halte, deren Zweck eine erhöhte Zellentätigkeit sein mag. Diese meines Wissens bisher nicht weiter beobachtete Organisation erlangt grade an diesem Orte eine besondere physiologische Wichtigkeit." Sarauw hat dieses „Hartigsche Flechtwerk" a. a. O. bei den Mykorhizen der Fichte genau so gefunden, wie es eben für die Kiefer beschrieben wurde, und hat es auch vortrefflich abgebildet. In das Innere der Zellen dringen die Pilzfäden hier niemals ein, jede Zelle zeigt einen normalen ruhenden Zellkern. Die mehrfach gegabelten korallenartigen Mykorhizen, von denen ein besonders kräftiges Exemplar unsere Figur 6 darstellt, zeigen im inneren Bau keine Abweichung von dem eben beschriebenen der einfachen Gabeln. Wenngleich es nun sicher zu beobachten ist, daß die Gabeln eine mehrjährige Dauer haben, daß aus einer einfachen Gabel im zweiten Jahre eine reicher verästelte werden kann, so ist doch ebenso sicher, daß die große Koralle auf unserer Figur sich in der Zeit von Mai bis Oktober gebildet hat; man kann also nicht aus der Größe der Korallen auf ihr Alter schließen.

Ein dem beschriebenen vollständig gleichender Pilzmantel, verbunden mit demselben „Hartigschen Flechtwerk", kommt nun aber sehr häufig auch an kurz bleibenden Seitenwurzeln der Kiefer vor, welche nicht gegabelt sind[1]), ja er findet sich, wenn auch nach meinen Erfahrungen selten, sogar an der Hauptwurzel der Einjährigen. Deswegen kann man leider, wo die Gabeln fehlen, mit bloßem Auge oder mit Hülfe der Lupe noch nicht das Fehlen der ektotrophen Mykorhizen feststellen. Wo die typischen Gabeln vorhanden sind, bedarf es keiner mikroskopischen Untersuchung mehr; sie sind stets Mykorhizen. Nie bildet die pilzfreie Kiefer solche Gabeln oder Korallen.

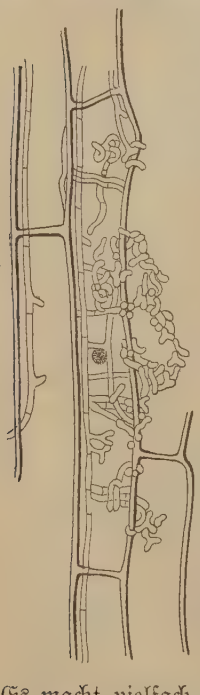
Außer den beschriebenen, bei uns häufigsten, hellgefärbten Gabelmykorhizen giebt es nun noch schwarze Gabelmykorhizen, welche offenbar von einem andern Pilze gebildet werden. Ihr Pilzmantel ist tief schwarz, fast kohlig gefärbt, und von ihm gehen stets in reicher Zahl dunkel gefärbte dickwandige lose Pilzfäden in die Umgebung. Ihr innerer Bau ist aber derselbe, wie bei den hellen Gabeln, nur ist das „Flechtwerk" wegen der Farbe der Hyphen leichter zu erkennen und wohl auch ein wenig stärker.

Ich darf ohne Übertreibung sagen, daß ich Hunderte von Schnitten durch ektotrophe Kiefernmykorhizen durchmusterte, doch konnte ich niemals sicher feststellen, daß von dem die Zellen trennenden Netzwerk ausgehend, Pilzfäden ins Innere der Zellen eingedrungen wären. Ich muß deshalb und auch aus weiter noch zu besprechenden Gründen annehmen, daß der oder die Pilze, welche

[1]) Dasselbe trifft nach P. E. Müller für Pinus montana zu. Vergl. Sur deux formes de Mycorhizes chez le Pin de Montagne. Bulletin de l'Académie royale des Sciences et des Lettres de Danemark 1902, No. 6.

die von mir im vorigen Jahre zum ersten Male beschriebenen entotrophen Kiefernmykorhizen bilden, anderer Art sind, als diejenigen der ektotrophen.

Ich beobachtete das erste Auftreten der entotrophen Mykorhizen am 21. Juni an Kiefern, welche am 25. April gesäet waren, eine gesamte Länge von 13 cm und nur erst ganz wenige, einige Millimeter lange Anlagen von Seitenwurzeln zeigten. Hier kroch aus dem umgebenden Erdreich ein dunkelfädiges Mycel mit reichverzweigten, etwa 3 μ starken Fäden an der jungen Wurzel entlang, hier und da gelang es, das Eindringen dieser Fäden in die Rindenzellen der Wurzel und zwar an beliebigen Stellen durch die Zellwand hindurch deutlich zu sehen. Im Innern der Wurzel erscheinen die Pilzfäden dann weniger dunkel als außen, aber immer noch bräunlich gefärbt. Die eingedrungenen Fäden wachsen nun nach oben und unten durch die Rindenzellen, durchbohren mit Leichtigkeit die Wände von einer Zelle zur andern, sie verzweigen sich reich und bilden Anastomosen, an manchen Stellen kommt ein Plektenchym zustande, in andern Zellen sieht man den Pilzfaden unverzweigt verlaufen. Ich habe diese Bildungen schon im vorigen Jahre (Seite 209 a. a. O.) beschrieben, und versucht, sie mikrophotographisch darzustellen. Der Versuch (Fig. 13 Taf. II der vorjährigen Mitteilung) ist aber an der Unvollkommenheit der Reproduktionstechnik gescheitert, sodaß mir von Tubeuf mit Recht im 2. Heft seiner Naturwissenschaftlichen Zeitschrift den Vorwurf macht, ich habe eine Figur meiner Arbeit beigefügt, an der eigentlich nichts zu sehen sei. Diesem Übelstand abzuhelfen, gebe ich diesmal eine Zeichnung der von mir beobachteten Gebilde. Es ist hierneben ein Längsschnitt durch Rindenzellen einer im Januar untersuchten einjährigen Kiefer dargestellt. Die Pilzfäden finden sich nur in den schon gebräunten Rindenzellen, doch ist in diesen Zellen sehr häufig neben dem reichverzweigten Mycel der intakte Zellkern noch gut erhalten zu finden. Intercellulares Geflecht, Hartigsches Flechtwerk, wie bei den ektotrophen Mykorhizen ist indessen mit diesen intracellularen Mycelien nicht in Verbindung. Äußerlich erkennt man an den sauber abgewaschenen Wurzeln die Stellen mit intracellularer Mycelwucherung meist daran, daß hier die Wurzel eine dunklere Farbe zeigt und ganz schwach verdickt erscheint. Es macht vielfach den Eindruck, daß die Pilzfäden eine verstärkte Bildung von Rindenzellen hervorrufen. So fand ich an einer im März untersuchten einjährigen Kiefer reichlich entwickeltes intracellulares Pilzgeflecht in 5 bis 6 konzentrischen Schichten gebräunter Rindenzellen, kaum 1 cm weiter zeigte die Wurzel wieder hellere Färbung, hier waren keine Pilzfäden eingedrungen und



nur 1 bis 2 Schichten brauner Rindenzellen vorhanden. Untersucht man derartig intracellular durchwachsene Wurzeln einjähriger Kiefern im April, so sieht man, daß alle pilzbefallenen Zellen durch die neu sich bildende Korkschicht abgestoßen werden. In den Korkzellen der zweijährigen Wurzelteile scheint das intracellulare Pilzwachstum nicht mehr mit derselben Üppigkeit sich zu entwickeln, wie an den einjährigen Wurzeln. Gebilde, die man als entotrophe Mykorhiza ansprechen könnte, habe ich an älteren Kiefernwurzeln bis heut nicht nachweisen können, reichlich natürlich an einjährigen Teilen älterer Wurzelsysteme.

Die vorstehend beschriebenen entotrophen und ektotrophen Mykorhizen können nun in engster Nachbarschaft vorkommen, und dies ist nicht eben selten; ja sie können sogar an und in denselben Zellen auftreten, so daß diese außen vom „Hartigschen Flechtwerk" bekleidet, innen von intracellular sich verbreitendem Mycel durchwuchert sind. Trifft man bei der Untersuchung eine solche Stelle, so hat es oft den Anschein, als hinge das intracellulare mit dem intercellularen Mycel zusammen. So viel ich aber auch gesucht habe, ich fand nie einen sicher nachweisbaren Zusammenhang zwischen beiden. Sarauw hat bei der Ulme gesehen, daß von dem intercellularen Geflecht haustorienartige Fortsätze ins Innere der Zellen sich abzweigen, und von Tubeuf bildet einen ähnlichen Fall für die Kiefer ab. Ich habe nie bei der Kiefer ein Bild gesehen, welches der Tubeufschen Darstellung entspräche. Selbstverständlich will ich damit die Richtigkeit der Beobachtung nicht bestreiten, sondern nur die Nachprüfung anregen. Für mich unterliegt es keinem Zweifel, daß sehr viel verschiedene Pilze unter Umständen in Verbindung mit der Kiefernwurzel treten, und es ist ja wohl möglich, daß darunter auch solche sich finden, die sowohl inter- wie intracellular sich verbreiten.

Um über die Entstehung der ektotrophen Mykorhizen näheres zu erfahren, untersuchte ich in meinem Versuchsgarten junge Kiefernpflanzen alle zwei Tage, später allwöchentlich, zum Herbste in vierzehntägigen Pausen und zum Winter noch alle Monat einmal. Unter den am 24. April 1902 gesäten, vom 24. Mai 1902 an etwa aufgelaufenen Sämlingen fand ich die ersten, mit einer guten Lupe eben sichtbaren Anfänge der Gabelmykorhizen am 14. Juli. Ein nur wenige Millimeter langer Seitensproß der Hauptwurzel zeigte an seiner Spitze die Anfänge der Gabelung durch zwei neben einander erscheinende schwach gewölbte Vegetationsspitzen. Schnitte durch so junge Mykorhizen zeigen nun, daß hier die intercellulare Verbreitung des farblosen Mycels schon weit vorgeschritten ist. Soweit die Anlage des Zentralstranges aus dem Scheitelmeristem schon erkennbar ist — und das ist der Fall bis dicht unter der Vegetationsspitze— so weit sind auch alle primären Rindenzellen schon von Pilzgeflecht umsponnen, während von einer äußeren Pilzschicht bisher noch nichts zu sehen ist. Einzelne

Pilzfäden finden sich auch an der Außenfläche der jungen Mykorhiza und liegen dieser dicht an, doch von einer engeren Verflechtung oder gar Plektenchymbildung ist noch nichts zu bemerken. Das erste Eindringen der Pilzfäden geschieht, so weit meine Beobachtungen reichen, nicht an der Spitze, sondern dicht unter derselben, und in manchen Fällen vielleicht durch die Wurzelhaare, welche ich öfter von Pilzfäden durchwachsen fand.

Im August fand ich an den meisten Kiefern die Bildung der ektotrophen Mykorhizen im vollen Gange. Um diese Zeit gelingt es leicht, an ein und derselben Pflanze Mykorhizen in allen Entwicklungsstadien zu finden.

Niemals ist die Spitze der Hauptwurzel verpilzt. Diese hat stets eine Wurzelhaube, welche den Mykorhizen durchgängig fehlt. Eben dadurch lassen sich schon sehr früh bei einiger Übung die Spitzen der Langwurzeln von jenen Kurzwurzeln unterscheiden, welche sich demnächst in Mykorhizen verwandeln. Schon mit einer guten Lupe erkennt man, daß jene eine kegelförmige, durch die Wurzelhaube etwas rauh und schülferig aussehende Spitze, diese aber ein halbkugelig gewölbtes glattes Ende aufweisen. Man kann also die Mykorhizen schon erkennen, wenn von einem Pilzmantel noch keine Spur vorhanden ist und von dem intercellularen Geflecht nur die ersten Anfänge festgestellt werden können. So wie die Spitze der Hauptwurzel, so sind auch die Spitzen der längeren Hauptseitenwurzeln immer pilzfrei und nicht zu Mykorhizen umgewandelt. Zur Zeit, da man Kiefern pflanzt, im ersten Frühjahr, erscheinen an diesen Spitzen zunächst die Neubildungen des jungen Jahres in Gestalt eines weißen, gegen die vorjährige Wurzel etwas verdickten, kurzen, kegelförmig zugespitzten Zylinders („Spargelspitzen" Theodor Hartigs), und oftmals habe ich in der forstlichen Praxis diese frischen Spitzen „Schwämmchen" nennen hören. Es ist nun zu bemerken, daß gerade diese „Schwämmchen" mit Schwamm nichts zu tun haben, sondern regelmäßig pilzfrei sind.

Sarauw, dessen ausgezeichnete Beobachtungen und scharfsinnige Folgerungen die höchste Bewunderung verdienen, hat diese eben besprochenen Verhältnisse bei den von ihm untersuchten Holzarten ebenfalls beobachtet und zu erklären versucht. Er sagt, die schnell wachsende Wurzelspitze sei eben durch ihr schnelles Wachstum gegen den Angriff des Pilzes geschützt, die Pilzfäden fänden nur bei den langsam wachsenden Kurzwurzeln die für ihr Eindringen nötigen Bedingungen. „Die korallenmäßige Verzweigung der letzteren," sagt Sarauw, „ist nicht die Folge, sondern die Ursache der Pilzscheidenbildung." Ganz unbedingt kann ich dem für die Kiefer nicht zustimmen. Freilich, daß die Spitze der Hauptwurzel nie zur Mykorhiza wird, kann man nur dadurch erklären, daß sie besondere Eigenschaften hat, welche sie von andern Wurzelspitzen unterscheiden und das Eindringen der Hyphen verhindern. Die gleiche Eigenschaft mögen manche Seitenwurzelspitzen besitzen, welche ohne Pilzangriff schnell weiter wachsen, während dicht über oder unter ihnen

Kurzwurzeln zu Mykorhizen werden. Auch daß in dem schnelleren Wachstum die geforderte besondere Eigenschaft dieser Wurzeln gegeben ist, mag vielleicht zutreffen. Aber daß die Gabelverzweigung der Kurzwurzeln der Kiefer die Ursache des Pilzangriffes sei, kann nicht eher zugegeben werden, als bis jemand eine solche Gabel pilzfrei auffindet. Daß dies gelingt, glaube ich nach meinen Erfahrungen nicht. Die pilzfreie Kiefer bildet nie und unter keinen Umständen die charakteristischen Gabeln. Wo die Pilze fehlen oder nicht wirksam werden, welche die ektotrophen Mykorhizen bilden, und das ist z. B. in unsern Rohhumusschichten der Fall, — da bleiben die Wurzeln der Kiefer glatt, und nie findet man eine Gabel an ihnen. Mir ist es über jeden Zweifel sicher, daß die Gabelung der Vegetationsspitze der Kurzwurzel nur unter der Einwirkung des intercellularen Pilzgeflechts zustande kommen kann.

Während im Juli die ersten Spuren der Gabelmykorhizen zu beobachten waren, im August noch viele Gabeln neu gebildet wurden, andere schon zur Ausbildung des äußeren Pilzmantels vorschritten, so fand ich im September schon überwiegend und späterhin nur noch fertig entwickelte Mykorhizen, wie sie vorher beschrieben wurden. Bis zum Dezember machen sie einen kraftstrotzenden frischen Eindruck; dann erscheinen sie im Februar-März dunkler gefärbt und leicht geschrumpft, bis zu Ende März oder Anfang April an ihrer Spitze ein kleines helles Knöpfchen oder zwei solche völlig gleiche dicht neben einander auftreten, welche das gabelspaltige Wachstum der Mykorhiza im nächsten Jahre fortsetzen. Wie alt die Mykorhizen der Kiefer überhaupt werden können, ist bisher noch nicht festgestellt. —

Fast unbestritten hat der von Frank aufgestellte Satz bisher gegolten, daß die Mykorhizen sich nur in humushaltigem Boden entwickeln; daß mit der Armut oder dem Reichtum des Bodens an humushaltigen Substanzen die Entwicklung der Mykorhizen fällt oder steigt. Ich habe im vorigen Jahre auf Grund meiner Untersuchungen ausgesprochen, daß für unsere Böden und für die gemeine Kiefer dies das gerade Gegenteil der Wahrheit ist. Ich wiederhole jetzt, unterstützt durch die Ergebnisse der Versuche des letzten Jahres, daß, wenn man die Kiefern in reinem Rohhumus unserer Altbestände erzieht, die ektotrophen Mykorhizen immer fehlen, in dem tiefer liegenden weiter zersetzten Humus treten sie spärlich auf, in dem Bleisand, dem gelben Sande und dem ganz humusfreien Urboden treten sie in üppigster Fülle auf. Ich bin nun von P. E. Müller und von v. Tubeuf mißverstanden worden. Beide meinen (l. c.), ich sei wohl zu weit gegangen, indem ich aus meinen Beobachtungen generalisierend gefolgert hätte, „daß die ektotrophe Mykorhiza auf humosem Boden stets fehle", wie v. Tubeuf sagt, oder indem ich gefunden hätte, „que les racines des vases contenant du sable presque pur étaient couvertes de mycorhizes, tandis que

celles des vases à substance humeuse n'en portaient pas", wie P. E. Müller sagt. Was ich gesagt habe, ist ganz etwas anderes (vergl. Seite 206 meines vorjährigen Aufsatzes), nämlich, „die ektotrophen bisher allein bekannten Mykorhizen kommen in reinem Humus gar nicht, in reinem humusfreien Sande immer zur Ausbildung". Dabei läßt schon der Titel meiner Arbeit nicht den geringsten Zweifel, daß ich nur von ein- und zweijährigen Kiefern in märkischem Sande spreche und durchaus nicht generalisieren will. In der Tat wären meine Mitteilungen mehr als oberflächlich, wenn ich nicht wüßte, daß in humosem Boden auch Mykorhizen vorkommen, ich kann sogar mitteilen, daß die Mischung des Rohhumus mit so geringen Spuren gelben Sandes, daß man sie mit bloßem Auge nicht wahrnimmt, vollkommen hinreicht, um hie und da an den Kiefern spärliche Gabelmykorhizen zu erzeugen. Aber im reinen Rohhumus entsteht ein Wurzelsystem, wie es Figur 18 Tafel II meiner vorjährigen Arbeit dargestellt ist, an dem man nach ektotrophen Mykorhizen vergebens sucht. — Der Grund hierfür kann entweder darin liegen, daß im reinen Rohhumus die Pilze fehlen, welche die Mykorhizen erzeugen, oder aber darin, daß die Pilze in diesem Humus reiche Nährstoffquellen finden, welche es für sie überflüssig machen, die Wurzeln anzugreifen. Hierüber können nur exakte Versuche entscheiden, welche noch nicht abgeschlossen sind.

Was für Pilze sind es nun, die mit der Kiefernwurzel sich so innig vergesellschaften? Im Januar 1902 suchte ich mir einjährige Kiefern aus, welche zahlreiche ektotrophe Mykorhizen aufwiesen. Nachdem die Wurzeln sauber gewaschen waren, wurden sie noch für einige Stunden dem Strahl der Wasserleitung ausgesetzt. Nun schnitt ich mit ausgeglühter Schere und Pinzette einzelne Gabelästchen und andere Wurzelstückchen von 3 bis 4 mm Länge ab, bei denen ich nach der vorhergegangenen Untersuchung sicher auf ektotrophe Mykorhizen rechnen konnte, und übertrug diese in Petrischälchen mit eben noch flüssiger Nährlösungsgelatine. Die mikroskopische Untersuchung einzelner solcher Probestückchen ließ nichts von anhaftenden Erdteilen, losen Mycelien oder fremden Sporen erkennen; der Mykorhizenmantel war vollkommen glatt und rein. Die Schälchen standen bei Zimmertemperatur. Schon am zweiten Tage nach der Aussaat konnte man mit schwacher Vergrößerung deutlich erkennen, wie gleichmäßig nach allen Richtungen um die ausgelegte Mykorhiza herum gleichartige Mycelfäden radial ausstrahlten; am folgenden Tage war jede Mykorhiza von einem konzentrisch sich weiter verbreitenden Mycel umgeben. An 10 verschiedenen ausgelegten Mykorhizenstückchen erschien dasselbe Mycel; bald erhob es sich locker flockig über die Gelatineschicht. — Mein Erstaunen war nicht gering, als ich nun feststellte, daß hier aus den Mykorhizen ein Pilz sich entwickelt hatte, den man in Deutschland noch nie beobachtete, der nur einmal erst im Jahre 1886 von Professor Vuillemin in Nancy gefunden und unter dem Namen

Mucor heterogamus in die Wissenschaft eingeführt worden war[1]). Dieser Pilz nimmt unter den Verwandten der Gattung Mucor eine sehr eigenartige Stellung ein. Während die Bildung der Zygosporen aus zwei kopulierenden Mycelzweigen bei den meisten andern Arten entweder selten und schwer zu beobachten, bei vielen noch nie gesehen ist, so tritt sie beim M. heterogamus regelmäßig in jeder Kultur an den in die Luft ragenden Fäden in solcher Massenhaftigkeit auf, daß es nicht schwer wird, 20 und mehr Zygosporen in allen Bildungsstadien in einem Gesichtsfelde des Mikroskops zu überschauen[2]).

Diesen Mucor heterogamus erzog ich, wie erwähnt, im Januar 1902 zum ersten male aus Kiefernmykorhizen in Reinkultur. In demselben Monat erhielt ich ihn aus Fichten- und Weymouthskiefern-Mykorhizen, welche einem andern Kamp aus einem andern Jagen der Oberförsterei Eberswalde entnommen waren. Im März wurde der Versuch mit andern Kiefern aus der Eberswalder Stadtforst wiederholt und gab wiederum Reinkulturen desselben Pilzes, und zwar in vielen gleichzeitig angesetzten Kulturschalen. Denselben Pilz kultivierte ich dann aus Eichenmykorhizen, die in derselben Weise, wie beschrieben, behandelt wurden. Am 2. Mai erhielt ich Kiefern aus der Oberförsterei Mirau, die Wurzeln wurden wie früher gewaschen, kleine Mykorhizenstückchen dann in Gelatine gelegt, und auch hier trat nach wenigen Tagen reiche Vegetation des Mucor heterogamus auf. Als wertvolles Ergebnis aller dieser Versuche ist das weitverbreitete unterirdische Vorkommen dieses auffälligen und bis dahin in Deutschland nie beobachteten Pilzes festzustellen. Verfrüht und voreilig aber wäre es gewesen, trotz dieser Versuche in dem Mucor heterogamus den Mykorhizenbildner der Kiefer, Weymouthskiefer, Fichte und Eiche zu proklamieren, wozu die Versuchung freilich nahe genug lag. Allein abgesehen von andern Erwägungen wurde dieser Schluß durch das Ergebnis anderer ähnlicher Versuche zweifelhaft gemacht. Ich untersuchte nämlich im April 1902 Kiefern aus der Oberförsterei Chorin und erzielte aus deren Mykorhizen Reinkulturen eines andern Pilzes, des Mucor spinosus, der auf sterilisiertem Brot schwärz-

---

[1]) S. Bulletin de la Société des Sciences de Nancy, Série II, Tome VIII, Fascicule XX, 19e année 1886.

[2]) Die mykologische Bearbeitung der an den Wurzeln der Kiefern auftretenden Mucorinen wird in der Kryptogamenflora der Mark Brandenburg, für welche ich die Zygomyceten übernommen habe, s. Z. erfolgen. Ich sandte Ende Januar 1902 lebende Kulturen des M. heterogamus an Herrn Professor Vuillemin in Nancy. Er untersuchte den Pilz weiter und kultivierte ihn im verflossenen Jahre auf verschiedenen Nährböden, wie ich es auch getan habe, und er schreibt mir jetzt, daß der Pilz von dem s. Z. in Frankreich entdeckten konstante Abweichungen in Sporenform und Zygosporengröße zeige. Vuillemin will die beiden Formen zu Vertretern einer neuen Gattung Zygorhynchus machen und hat sie als Zygorhynchus heterogamus und Z. Mölleri inzwischen im Bulletin de la société mycologique de France veröffentlicht und charakterisiert.

liche niedrige Rasen bildet. In einem andern Falle (März 1902) entwickelte sich aus schönen Gabelmykorhizen von Kiefern aus Jagen 106 der Oberförsterei Eberswalde ein neuer Mucor, den ich als Mucor Ramannianus vorläufig charakterisieren will[1]).

Eben denselben zierlichen Pilz erzog ich aus den Mykorhizen von bayrischen, auf Moorböden gewachsenen Kiefern, welche mir Professor Ramann im Mai 1902 zusandte. Endlich ergaben andere Mykorhizenproben derselben bayrischen Moorkiefern Reinkulturen eines Mucor, der in die nächste Verwandtschaft des äußerst vielgestaltigen Chlamydomucor racemosus gehört und hier nur unter diesem Namen aufgeführt werden mag.

So hatte ich nun vier Mucor-Arten in einer Versuchsanstellung gewonnen, welche auf deren Zusammenhang mit den Mykorhizen hinzuweisen schien. Ich ging nun daran, die Synthese der Mykorhizen zu versuchen.

Zu dem Zwecke setzte ich je drei Blumentöpfe in der Weise ineinander, wie die nebenstehende Figur erläutert. Ein Kiefernsamenkorn wurde auf den obersten Topf gesät am 30. März. Die Töpfe waren mit gewöhnlichem gelbem Sande aus dem Bestande gefüllt. Es war leicht, durch versuchsweises Anheben des ersten oder des zweiten Topfes den Moment festzustellen, wo das Würzelchen durch die Bodenöffnung des Topfes in den nächst unteren eintrat. Alsdann konnte an dieser Stelle ein Mycelrasen des betreffenden Pilzes hingelegt werden, mit dem nun die Wurzel ganz sicher in Berührung kommen mußte. Im ersten Dreitopf, welcher vor dem Versuche im Dampftopf sterilisiert worden war, durchstieß die Wurzel den obersten Boden am 14. April, hier wurde ein Rasen von Mucor heterogamus ihr untergelegt; der zweite Boden wurde am 22. Juni durchstoßen, und auch hier wurde ein Rasen desselben Pilzes eingebracht. Am 10. Oktober wurde die Pflanze, welche nur kümmerlich entwickelt war, aus dem Sande genommen und durch Abspülen gereinigt, das Wurzelsystem dann noch durch mehrstündiges Abspülen unter dem Strahl der Wasserleitung von allen anhaftenden Teilchen befreit; danach schnitt ich in der Nähe der Infektionsstellen 6 kleine,

[1]) Mucor Ramannianus nov. spec., Mycel schneeweiß, reich verzweigt, äußerst feinfädig mit Gemmenbildung, auch mit endständigen conidienartigen Gemmen. Fruchtträger aufrecht, kaum 1 mm lang, meist viel kürzer, einzeln oder doldenartig zusammengeordnet, unverzweigt. Sporangien einzeln kupferfarben, in der Masse hell rosenrot, wodurch der ganze Mycelrasen diese Farbe annimmt, kugelig, 20 bis 40 μ Durchmesser. Columella kuglig, 7 bis 9 μ Durchmesser; in einer Entfernung von 10 bis 20 μ unter dem Sporangium befindet sich stets eine Scheidewand im Stiel. Peridium vollständig zerfließend, ohne Basalkragen. Sporen rundlich bis länglich 1,7 × 2,5 μ, hyalin. Zygosporen unbekannt. Bildet auf Brot niedrige, langsam radial sich ausbreitende rosarote Rasen, auf Mist entwickelt er sich nicht. Kultiviert aus Kiefernmykorhizen aus Bayern und der Mark Brandenburg.

Dem um die forstliche Bodenkunde hochverdienten Professor Dr. E. Ramann gewidmet.

wenige Millimeter lange Wurzelstückchen heraus und brachte sie in Nährlösungsgelatine in Petrischälchen. Aus allen entwickelte sich gleichmäßig im Verlauf weniger Tage rings um das Wurzelstück radial ausstrahlend Mucor heterogamus in vollkommener Reinkultur. An den Wurzelstückchen war vorher bei der allein möglichen mikroskopischen Prüfung mit schwachem Objektiv im offenen Wassertropfen von anhaftenden Mycelien oder Sporen nicht das geringste zu entdecken gewesen.

Bei einem zweiten Versuche, der in genau gleicher Weise mit nicht sterilisiertem Sande ausgeführt wurde und bei dem durch Begießen mit einer dünnen Lösung von Chilisalpeter die Kiefer wesentlich kräftiger entwickelt wurde, war das Resultat dasselbe. Die völlig gereinigten 5 Wurzelstückchen umgaben sich alsbald je mit einem reinen Mycelhof des Mucor heterogamus. Keinerlei fremde Pilzbildung wurde beobachtet.

Zwei völlig parallele Dreitopfversuche wurden gleichzeitig mit dem neuen Mucor Ramannianus ausgeführt. Die Wurzelstückchen aus dem sterilisierten Sande entwickelten wieder den Mucor Ramannianus, nur an einer Stelle der Kulturschale zeigte sich ein fremder Eindringling in Gestalt eines unbekannten, Conidien bildenden Mycels. Diejenigen aus dem nicht sterilisierten Sande dagegen wurden bald von dem gemeinsten Schimmelpilz Penicillium glaucum überwuchert, jedoch nicht so schnell, daß nicht an jedem von ihnen noch die Sporangienköpfchen des Mucor Ramannianus nachweisbar gewesen wären. Und ebenso endlich verliefen die Versuche mit Mucor spinosus und racemosus. Aus den so gründlich als möglich gereinigten Wurzelprobestückchen, an denen von äußerlich anhaftenden Mycelien nichts zu entdecken war, entwickelte sich jeweilig derjenige Mucor, mit dem das Würzelchen beim Durchstoßen des Topfbodens in Berührung gebracht worden war.

Ich habe diese Versuche der Mitteilung wert gehalten, sowohl der angewandten Methode wegen, als auch wegen der immerhin bemerkenswerten Ergebnisse. Sie regen zu weiteren Versuchen der Aufklärung dieser interessanten Frage unwillkürlich an, und ich selbst werde natürlich ebenfalls diese Anregungen weiter verfolgen. Daß aber diese Mukorinen wirklich die Mykorhizabildner sind, ist für mich noch nicht sicher erwiesen. Es sprechen zu viele Gründe dagegen; vor allem hat das Mycel der ektotrophen sowohl wie der entotrophen Mykorhiza mit seinen vielen Querwänden und seiner Neigung zur Plektenchymbildung wenig Ähnlichkeit mit Mukorinenmycelien, wie sie in Kulturen beobachtet werden.

Wichtiger vielleicht als die Art der Mykorhizapilze ist die Frage nach der Bedeutung der Mykorhizen für die Ernährung der Kiefer. Meine hierauf bezüglichen Beobachtungen und Schlüsse beschränken sich zunächst, wie ich nochmals ausdrücklich hervorhebe, auf unsere gemeine Kiefer und auf die Eiche, soweit die gleich zu besprechenden Versuche für diese Holzart Schlüsse zulassen, und sie beschränken sich auch auf unsere märkischen Böden. Da ist

nun zunächst festzustellen, daß die von dem verstorbenen Professor Frank vornehmlich verteidigten Ansichten über die Bedeutung der Mykorhiza für die Kiefer in keiner Weise zutreffen. Im vorigen Jahr schon habe ich nachgewiesen, daß der Satz, die Mykorhizaentwicklung stehe im geraden Verhältnis zur Humushaltigkeit des Bodens, das direkte Gegenteil der Wahrheit ausdrückt. Nach all meinen Versuchen ist das Umgekehrte der Fall. Ferner hat Frank im Forstwissenschaftlichen Zentralblatt 1894, Seite 187, den Schluß gezogen, „daß die Kiefer auf einem normalen guten Kiefernboden nicht zur Entwicklung kommt, wenn ihre natürlichen Wurzelpilze fehlen und dadurch die Bildung der Mykorhizen verhindert ist, während sie auf demselben Boden und unter sonst gleichen Verhältnissen kräftig ernährt wird, wenn ihre Wurzeln verpilzt sind." Auch dieser Schluß ist als vollständig irrtümlich nun erwiesen. Die drei Jahre hinter einander wiederholten Versuche lehren ausnahmslos, daß die üppigsten kräftigsten Kiefern auf unsern Böden zu erziehen sind, wenn man den Samen in Kästen oder Beete mit entsprechend zerkleinertem und feuchtgehaltenem reinem Rohhumus aussät. Und wenn dies sorgfältig ausgeführt wird, so bekommen solche Kiefern nie eine Spur von Mykorhizen. Es ist gar nicht nötig, den Humus zu sterilisieren. Wenn also die Kiefern so üppig, wie sie nach den Erfahrungen der Praxis überhaupt nur werden können, sich im reinen Rohhumus ohne Mykorhizen entwickeln, so ist der Beweis geführt, daß sie die Mykorhizen nicht nötig haben. Wenn auf der andern Seite auch die mykorhizenreichsten Kiefern, wie sie auf gelbem Sande und Bleisand wachsen, überall neben den Mykorhizen in reichlichster Fülle normale Wurzelhaare besitzen, so kann auch davon keine Rede sein, daß diesen mykorhizabesetzten Kiefern alle oder die meisten Nährstoffe erst durch die Mykorhizapilze vermittelt würden. Dies alles gilt für die ektotrophen Mykorhizen, die einzige Form, welche bis dahin für die Kiefer bekannt war. Nun kommen, wie ich gezeigt habe, bei fast allen darauf untersuchten einjährigen Kiefernwurzeln Mycelien im Innern der Rindenzellen vor, welche sich hier in der beschriebenen Weise oft sehr üppig entwickeln. Ob man Teile einjähriger Wurzeln, welche in dieser Weise pilzdurchwucherte Rindenzellen besitzen, als entotrophe Mykorhiza bezeichnen will, ist eine Frage, über die sich streiten läßt. Ich will hier nicht darauf eingehen; sachlich ist es gleichgültig. Es ist möglich, aber auf Grund der derzeitigen Kenntnisse weder zu behaupten, noch zu bestreiten, daß die im Innern der Rindenzellen lebenden Mycelien bei der Ernährung der Kiefer eine Rolle spielen. Meine letztjährigen Erfahrungen machen es mir aber nicht wahrscheinlich, schon um deswillen nicht, weil diese Mycelien mit dem umlagernden Boden nur sehr wenig Verbindung haben; daß sie Stickstoffernährung aus dem Humus vermitteln, ist nicht wahrscheinlich, weil sie im reinen Humus und in humusarmen Böden gleicherweise zu treffen sind, für gelöste Mineralstoffe aber stehen überall die Wurzelhaare als viel zahlreichere und geeignetere Aufnahmeorgane zur Verfügung.

Seitdem wir durch Hellriegels bahnbrechende Untersuchungen wissen, daß die Leguminosen mit Hilfe von Pilzen Stickstoff binden, liegt der Gedanke nahe, zu sehen, ob nicht auch andere Pflanzen mit Hilfe anderer Pilze dasselbe vermögen. Aber noch ist trotz der vielen darauf verwendeten Arbeit kein anderer Fall von Stickstoffassimilation durch die gemeinsame Arbeit höherer Pflanzen und Pilze mit ähnlicher Sicherheit und Schärfe wie bei den Leguminosen nachgewiesen.

Auch mich beschäftigte die Frage: Sollten die Kiefern nicht doch und vielleicht mit Hülfe der Mykorhizen Stickstoff aus der Luft, wenn auch nur in geringem Grade verwerten können? Die Antwort der Versuche, welche Professor Ramanns gütige Hülfe ermöglichte, fiel aber verneinend aus.

Ich verweise zunächst auf den oben Seite 263 bereits mitgeteilten Versuch. Zwei mit demselben gelben Sande gefüllte und mit Kiefern besäte Kästen wurden täglich oder alle zwei Tage begossen, der eine mit reinem Wasser, der andere mit der dünnen Lösung von salpetersaurem Natron. Den auffallenden Unterschied in der oberirdischen Entwicklung habe ich beschrieben und Taf. II, Fig. 2 abgebildet. Neugierig war ich nun auf die Wurzelentwicklung. Am 24. Oktober wurden einige Pflanzen aus jedem der beiden Kästen genommen und sauber abgewaschen. Zwei typische Vertreter sind in Fig. 7, Taf. III, photographisch wiedergegeben. Die Üppigkeit der Mykorhizenentwicklung steht im geraden Verhältnis zur Üppigkeit der Entwicklung der Pflanze überhaupt. An den mit Stickstoff gedüngten Pflanzen sind alle Wurzeln dicht mit Gabel- und Korallenmykorhizen besetzt, an den mit Wasser begossenen fehlen solche Gabeln nicht ganz, sie sind aber nur hier und da in kümmerlichster Entwicklung zu finden. Hätten die Mykorhizen den Zweck und die Fähigkeit, den atmosphärischen Stickstoff der Pflanze dienstbar zu machen, so müßten sie doch wohl bei den an Stickstoffhunger krankenden Pflanzen sich erst recht und kräftiger entwickelt haben, als an denen, welche Stickstoff stets zugeführt erhielten. Das Umgekehrte ist der Fall. Die regelmäßige Zufuhr des salpetersauren Natron hat, wie sie die Kiefern kräftig ernährt, auch die Mykorhizen in ihrer Entwicklung befördert.

Der Ausgang des Versuches sprach nicht dafür, daß atmosphärischer Stickstoff mit Hülfe der Mykorhizen gebunden werde. Beweisende Ergebnisse aber konnten in dieser Richtung nur mit Hülfe der chemischen Untersuchung erwartet werden.

Dem Versuche wurden sechs der schon früher beschriebenen 40 cm hohen Blumentöpfe gewidmet, deren Topfscherben von Professor Ramann stickstofffrei befunden worden waren. Alle sechs wurden mit demselben Freienwalder tertiären Quarzsand gefüllt, dem auf je 1 kg 2 g zweibasisch phosphorsauren Kalkes beigemischt wurden. Sodann bepflanzte ich Ende April drei Töpfe mit je drei einjährigen Eichen, die drei andern mit je

5 einjährigen Kiefern. Die Wurzeln der Pflanzen wurden vor dem Einpflanzen unter dem Strahl der Wasserleitung aufs sorgfältigste gereinigt und von allen anhaftenden Bodenteilchen völlig befreit. Die Untersuchung ergab, daß die Eichen an allen reichlichst vorhandenen feinen Wurzelästchen Mykorhizen trugen, und für die Kiefer das reichliche Vorhandensein üppiger entotropher und ektotropher Mykorhizen. Die Aufstellung der sechs Töpfe erfolgte in meinem Garten unter einem Glasdach, welches gegen Regen von oben und von der Seite völlig sicheren Schutz bot. Im übrigen standen die Töpfe frei auf einer Unterlage von Steinen und die Luft hatte ungehinderten Zutritt. Während der ganzen Vegetationszeit bis zum 12. November wurden die Töpfe nach Bedarf täglich oder einen Tag um den andern begossen und zwar zwei Eichentöpfe und zwei Kieferntöpfe mit einer Lösung von 0,25 g Chlorkalium und 0,50 g schwefelsaurer Magnesia auf 20 Liter stickstofffreien destillierten Wassers (aus der Scheringschen Fabrik); ein Eichen- und ein Kieferntopf dagegen mit derselben Lösung und außerdem mit Wasser, welchem 1 g salpetersaures Natron auf 5 Liter zugesetzt war. Über den Unterschied in der oberirdischen Entwicklung der so behandelten drei Kieferntöpfe habe ich oben Seite 262/63 schon berichtet. Bei den Eichen geschah das erste Austreiben im Frühjahr wie bei den Kiefern durchaus gleichmäßig in allen drei Töpfen. Es erfolgte zweifellos nur auf Kosten der in der Pflanze vorhandenen Reservestoffe. Erst vom Juli ab traten kleine Verschiedenheiten in der Blattfärbung allmählich hervor. Die stickstofffreien Eichen zeigten ein wenig blassere mattere Blattfärbung. Ein zweifelloser und klarer Unterschied aber machte sich geltend bei der Bildung des Johannistriebes. Bei den mit Stickstoff gedüngten Eichen brachte jede der drei Pflanzen einen kräftigen Johannistrieb, während bei den ohne Stickstoff lebenden nicht ein einziger Johannistrieb zur Entwicklung kam. Die Knospen für das nächste Jahr wurden bei den Stickstoffeichen normal und kräftig ausgebildet, bei den andern sind sie kümmerlich und dürftig, die Belaubung der ersteren war erheblich stärker und kräftig grün, die der andern nur spärlich und sie ging hier sehr früh zur Herbstfärbung über. Die Blätter der stickstoffarmen Eichen fielen früh ab; sie wurden natürlich sorgsam gesammelt; am 19. Oktober waren von den sechs Eichen ohne Stickstoffzufuhr schon vier Stück ganz blattlos, die beiden andern hatten nur noch wenige Blätter; von den drei Stickstoffeichen waren insgesamt erst zwei Blätter gefallen. Die Photographie Tafel II, Fig. 1, stellt die drei Töpfe in ihrem Zustand vom 4. Oktober dar. An demselben Tage ist auch die Aufnahme von zweien der Kieferntöpfe Tafel II, Fig. 3, gemacht. Am 9. November wurden vier Töpfe und zwar ein Eichentopf mit Stickstoff und einer ohne solchen, und ein Kieferntopf mit Stickstoff und einer ohne solchen umgestülpt, und die Pflanzen wurden in Wasser gründlich reingespült. Je ein stickstofffreier Eichen- und Kieferntopf wurden im Keller überwintert, um

festzustellen, ob diese Pflanzen im nächsten Jahre überhaupt noch austreiben werden, wozu wenig Aussicht vorhanden scheint[1]). Die Untersuchung der ausgewaschenen Wurzeln ergab insofern für Eichen wie Kiefern dasselbe Resultat, als bei beiden in den mit Stickstoff gedüngten Töpfen die ektotrophen Mykorhizen aufs reichlichste und üppigste entwickelt, in den stickstofffreien Töpfen dagegen fast bis zum Verschwinden reduziert waren.

Bei den Kiefern insbesondere war das Wurzelsystem als ganzes ebenso reich verzweigt mit Stickstoff wie ohne denselben; im letzteren Fall aber konnten ektotrophe Mykorhizen kaum noch nachgewiesen werden; Gabeln waren gar nicht vorhanden, während solche bei den Stickstoffkiefern sich äußerst reichlich fanden. Entotrophe Mykorhizen waren dagegen auch ohne Stickstoffzufuhr in ihrer Entwicklung nicht gehemmt, ja sie schienen sogar üppiger und reichlicher vorhanden als an den Stickstoffkiefern. Die Pflanzen wurden nun bei gewöhnlicher Zimmertemperatur getrocknet und nebst Proben des zugehörigen Bodens aus den entsprechenden Töpfen an Herrn Professor Ramann nach München gesandt. Außerdem wurden Vergleichspflanzen eingesandt, welche mit den Probepflanzen seinerzeit vor Beginn des Versuchs zusammengestanden hatten.

Professor Ramann schrieb bei Mitteilung der Ergebnisse seiner Analysen: „Um Pflanzen mit Pilzwurzeln zu haben, mußte Gebrauch von mindestens einjährigen Pflanzen gemacht werden, und es ist selbstverständlich, daß dann keine absoluten, sondern nur relative Verhältnisse ermittelt werden können. Staunenswert ist die Produktion von organischer Substanz trotz mangelnden Stickstoffs. Wahrscheinlich stellt sich das Verhältnis so, daß bereits in den Reservestoffen die Hauptmenge der Nährstoffe aufgespeichert ist, welche etwa bis zum Juli, der Zeit des Abschlusses der vegetativen Tätigkeit der Bäume, gebraucht werden. Sind inzwischen wieder genügende Mengen aufgenommen worden, so kommt es zum Johannistrieb, sonst nicht". — (Daß diese Erwägung das richtige trifft, war von den Versuchspflanzen bei täglicher Beobachtung förmlich abzulesen.) „Ich habe mir schon oft die Frage vorgelegt, ob anzunehmen sei, daß die Bäume im Frühjahr einen so hohen Nährstoffbedarf enthalten, wie den Mineralstoffen in den Blattorganen entspricht; denn bald nach der Entfaltung (Anfang Juni) enthalten die Blätter bereits ihren vollen Gehalt an Kali, Phosphorsäure, Stickstoff; Zunahme erfolgt später nur an Kalk, Kieselsäure, also minderwichtigen Stoffen. Ich konnte aber nicht zu einem bestimmten Schluß kommen. Nach den jetzt vorliegenden Versuchen bin ich der Meinung, daß die zur vollen Entwicklung der Blätter notwendigen Mineralstoffe bereits im Baumkörper vorhanden sind, und daß, da die Hauptbildung der organischen Substanz

[1]) Die Eichen haben bis heut (15. Mai 1903) noch einmal Blätter getrieben, die Kiefern scheinen nicht mehr austreiben zu wollen.

in den ersten Vegetationsmonaten erfolgt, auch von andern Nährstoffen genug vorhanden ist."

Das Ergebnis der Ramannschen Analysen für die Kiefern war folgendes:

	Das Trockensubstanzgewicht g	Das Stickstoff %	Das Trockensubstanzgewicht einer Pflanze g	Der Stickstoffgehalt einer Pflanze g
bei den zum Versuch benutzten einjährigen Kiefern war für 34 Stück	3,9	1,191	0,115	0,0014
bei den ohne Stickstoff erzogenen 4 Kiefern war beim Schluß des Versuchs . . .	3,96	0,684	0,99	0,0068
bei den mit Stickstoff erzogenen 4 Kiefern war beim Schluß des Versuchs . . .	2,48	2,134	0,62	0,0132

Hierzu muß ich bemerken, daß für den ohne Stickstoff zu behandelnden Topf — leider — von vornherein kräftigere Pflanzen zur Verwendung gekommen sind als für den mit Stickstoff gedüngten. Hierdurch allein ist es zu erklären, daß nach dem Befunde der Analysen der Anschein erweckt wird, als sei die Produktion von Trockensubstanz ohne Stickstoff größer als mit demselben gewesen. Allein die Größen- und Gewichtsunterschiede der 34 am Anfang des Versuchs untersuchten Kiefern waren so bedeutend, daß man für die stärksten unter ihnen — und diese gerade wurden ohne Stickstoff behandelt — nach Ramann einen Gehalt von 0,003 bis 0,004 g Stickstoff ansetzen muß. Wir hätten auch dann noch eine Zunahme von 0,003 g Stickstoff bei der einzelnen Kiefer für die Vegetationszeit. Allein diese Menge findet durch Absorption von Ammoniak aus der Luft und durch die unter dem Glasdach sich sehr reichlich einfindenden Fliegen, Mücken u. dgl., deren Leichen oftmals auf die Töpfe fielen, genügende Erklärung. Nehmen wir hinzu, daß die Kiefern, welchen salpetersaures Natron geboten wurde, bei nur $^2/_3$ des Trockensubstanzgewichts doppelt so viel Stickstoff enthielten als die andern und daß diese letzteren unter allen Anzeichen des Stickstoffhungers dahinsiechten und wahrscheinlich nicht mehr imstande sind, überhaupt noch auszutreiben, so müssen wir als Ergebnis des Versuchs feststellen, daß die Kiefern auch bei kräftiger Entwicklung der entotrophen und ektotrophen Mykorhizen jedenfalls nicht imstande sind, eine für ihren Lebensprozeß irgend bedeutungsvolle Menge von Luftstickstoff zu assimilieren, selbst wenn noch genauere und feinere Untersuchungen wirklich eine minimale Bindung von Luftstickstoff feststellen sollten.

Von den Eichen wurden 7 Stück, welche den zum Versuch dienenden 9 Stück möglichst ähnlich waren, analysiert. „Sie ergaben 16,38 g Trockengewicht mit 1,692% Stickstoff. Eine Eiche enthielt also im Durchschnitt 0,04 g Stickstoff. Da das Gewicht der 7 Eichen zwischen 2 g und 3,2 g

schwankte, so sind im Stickstoffgehalt der Eichen bei Anfang des Versuches als Grenzwerte 0,03 g und 0,05 g anzunehmen. Am Ende des Versuches wurden drei mit und drei ohne Stickstoff behandelte Pflanzen einzeln nach Stamm und Blättern getrennt analysiert.

Es war ohne Stickstoffzufuhr		Gewicht g	Stickstoff %	Stickstoffgehalt g
bei Nr. 1	der Blätter	1,30	1,273	0,016
	des Stammes	7,92	0,57	0,045
	der ganzen Pflanze . . .	9,22	—	0,061
	also gegen den Durchschnitt	+ 6,6	—	+ 0,021
bei Nr. 2	der Blätter	0,70	0,871	0,006
	des Stammes	11,25	0,536	0,063
	der ganzen Pflanze . . .	11,95	—	0,069
	also gegen den Durchschnitt	+ 9,35	—	+ 0,029
bei Nr 3	der Blätter	0,53	1,707	0,009
	des Stammes	3,26	0,618	0,020
	der ganzen Pflanze . . .	3,79	—	0,029
	also gegen den Durchschnitt	+ 1,19	—	— 0,011

Es war mit Stickstoffzufuhr:

bei Nr. 4	der Blätter	1,13	1,148	0,013
	des Stammes	7,21	1,048	0,076
	der ganzen Pflanze . . .	8,34	—	0,089
	also gegen den Durchschnitt	+ 5,74	—	+ 0,049
bei Nr. 5	der Blätter	2,21	0,875	0,019
	des Stammes	10,98	1,251	0,137
	der ganzen Pflanze . . .	13,19	—	0,156
	also gegen den Durchschnitt	+ 10,59	—	+ 0,116
bei Nr. 6	der Blätter	1,67	0,938	0,016
	des Stammes	14,18	1,146	0,162
	der ganzen Pflanze . . .	15,85	—	0,178
	also gegen den Durchschnitt	+ 13,25	—	+ 0,138

Es wogen demnach die drei ohne Stickstoff kultivierten Eichen zusammen . . . . . 24,96 g
Sie enthielten zusammen . . . . . 0,160 g Stickstoff
oder 0,64 %
Es wogen die drei mit Stickstoff ernährten Eichen . . 37,38 g
Sie enthielten zusammen . . . . . 0,422 g Stickstoff
oder 1,13 %

Es ergibt sich durch die gleichen Erwägungen, wie bei dem Kiefernversuche, daß die Eichen auch bei kräftiger Mykorhizenentwicklung eine irgend in Betracht kommende Bindung von Luftstickstoff nicht bewirken."

„Der benutzte Tertiärsand besaß vor dem Versuch keinen meßbaren Gehalt an gebundenem Stickstoff. Nach dem Versuch enthielt er:

In dem	Kiefertopf	ohne	Stickstoffzufuhr	0,0028 %	Stickstoff
" "	"	mit	"	0,0025 "	"
" "	Eichentopf	ohne	"	0,0018 "	"
" "	"	mit	"	0,0028 "	"

Es zeigt sich demnach, daß der Boden im Verlaufe der Kultur einen allerdings sehr geringen Gehalt an gebundenem Stickstoff aufgenommen hat, aus dessen Vorhandensein sich auch die geringe Steigerung des Stickstoffgehaltes bei Eichen und Kiefern erklären läßt. Auffällig ist, daß die Stickstoffzufuhr, welche allerdings in sehr verdünnter Lösung erfolgte, keine Steigerung des Stickstoffgehaltes im Boden bewirkt hat. Offenbar ist die Salpetersäure von den Pflanzen stets rasch aufgenommen worden."

Weit entfernt davon, die Mykorhizafrage für gelöst zu halten, glaube ich vielmehr, daß die wunderbaren Beziehungen zwischen den Pilzen und den Wurzeln höherer Pflanzen noch auf Jahre hinaus der Forschung wichtige und anziehende Arbeitsobjekte sein werden und sein müssen. Wir müssen uns auf diesem Gebiete ganz besonders davor hüten, zu verallgemeinern und die verhältnismäßig wenigen Einzeltatsachen, welche wir ermitteln, unter eine vorgefaßte Ansicht zu zwingen. Zwar empfängt die Forschung gewiß oftmals wertvollste Anregung durch Aufstellung von Hypothesen und Theorien, welche es zu bestätigen oder zu widerlegen gilt. Aber auf dem Gebiete der Mykorhizaforschung ist die Hypothesenbildung meines Erachtens nun genügend, ja soweit getrieben worden, daß fast alle denkbaren Hypothesen über den Sinn der Mykorhizenbildung schon ihre Vertreter gefunden haben. Es wird daher auf diesem Gebiete weitere gedeihliche Arbeit nur von sorgsamer Einzelforschung erwartet werden können.

Überblicke ich das für unsere Waldbäume bisher ermittelte Tatsachenmaterial, so kann ich mich aus vollster Überzeugung nur dem anschließen, was der um unsere Frage so hochverdiente Dr. G. Sarauw mir neulich schrieb: „Daß die Pilze unseren Waldbaumwurzeln und den Bäumen Vorteil bringen sollten, ist bisher meines Erachtens weder durch Beobachtungen in der Natur, noch durch Versuche nachgewiesen worden"; und ich schließe mit der Übersetzung des Schlußsatzes der Sarauwschen (oben erwähnten) Arbeit: „Ein Rückblick auf die ganze einschlägige Literatur über die Wurzelsymbiose scheint anzudeuten, daß der Gibellische Wechsel auf die Toleranz der Natur — indigenato tollerato e tollerabile — zum höchsten Kurs steigen wird."

Fig. 1.
f a
e c

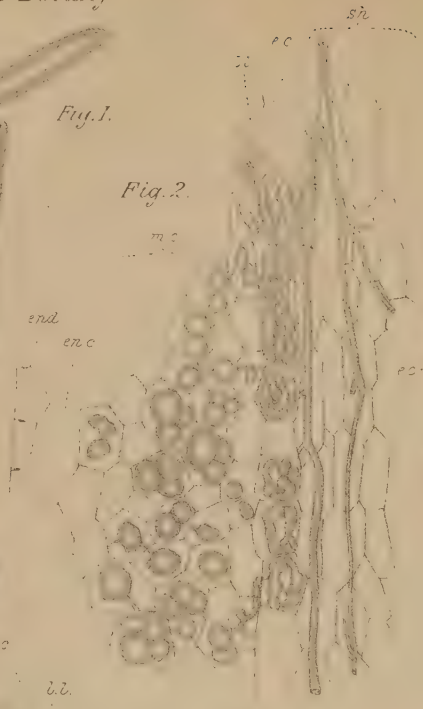


Fig. 2.
s h
e c
m c
end.
en c
e c

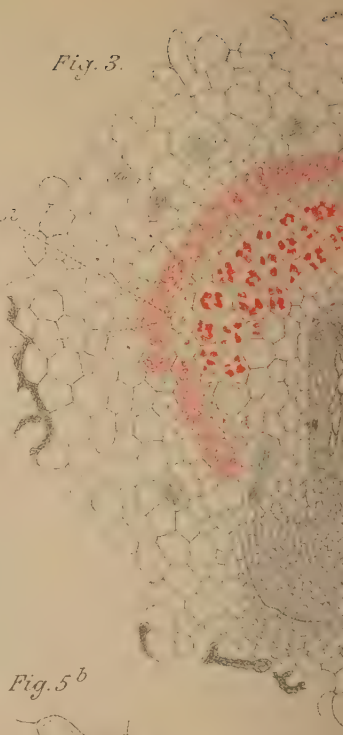


Fig. 3.
v l
e c

s h
l l
end.

Fig. 6.

Fig. 5 b
p c
p h s.
x y

Fig. 12.

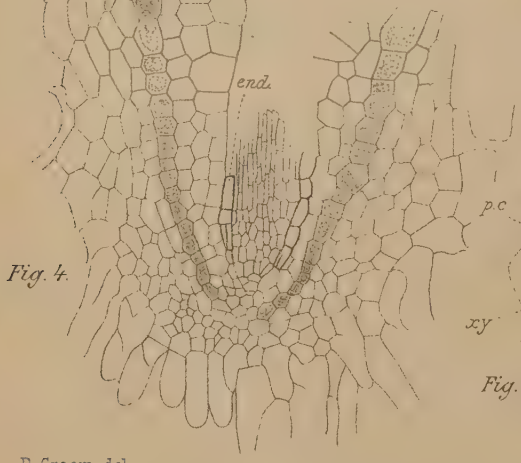
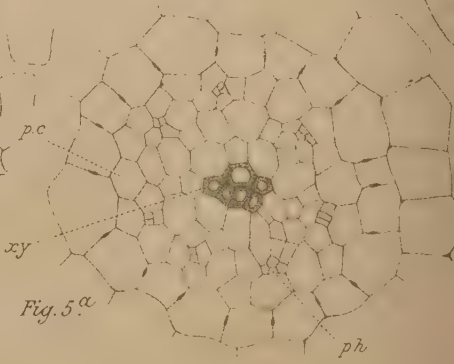


Fig. 4.


p c
x y
Fig. 5 a
p h

P. Groom del.

Fig. 7.

Fig. 8.

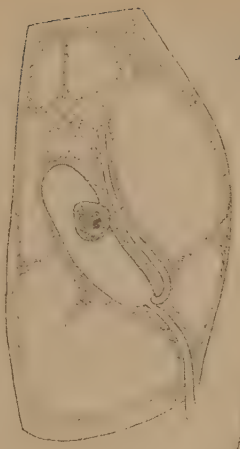


Fig. 9.

Fig. 10.

Fig. 13.

Fig. 11.

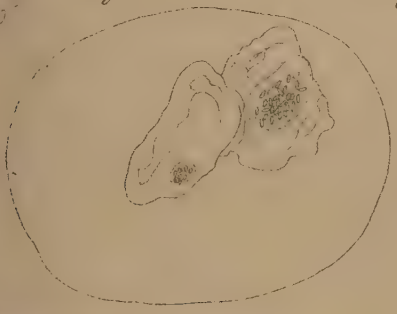
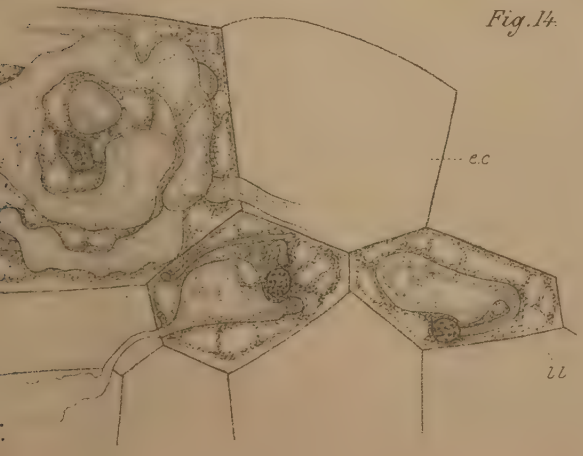


Fig. 14.



University Press, Oxford.

Fig. 17.

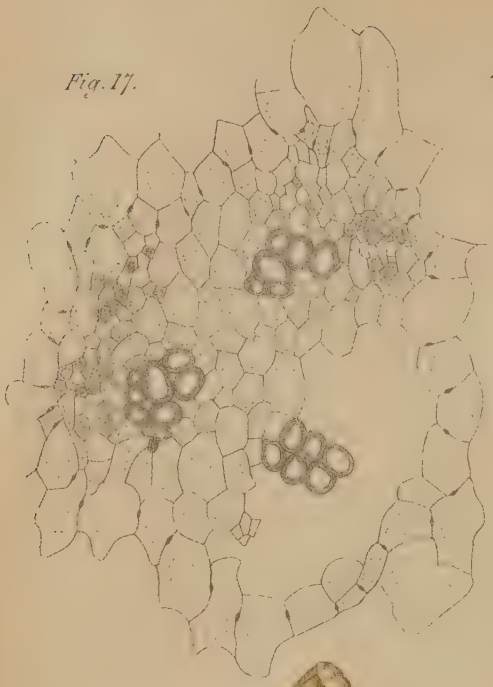


Fig. 18.

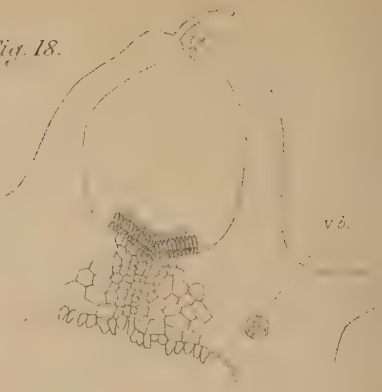
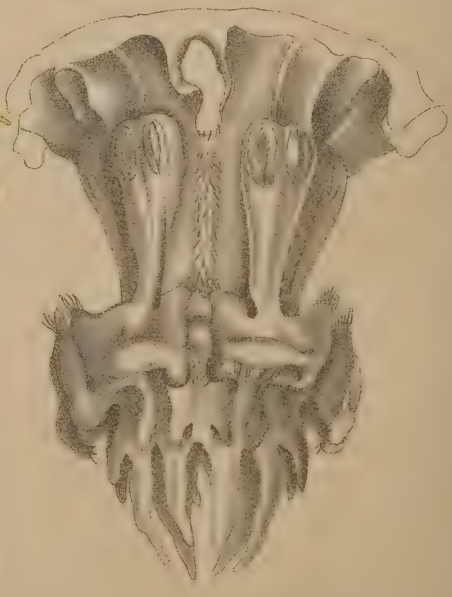


Fig. 16.

Fig. 19.

Fig. 20.



P. Groom. del. University Press, Oxford.

GROOM. — ON THISMIA.

On Thismia Aseroe (Beccari) and its Mycorhiza.

BY

PERCY GROOM, M.A., F.L.S.

With Plates XIII and XIV.

A. Morphology.

A NUMBER of holosaprophytic forms found in the tropics of the old and new worlds, constitute the Burmanniaceous genus *Thismia*. The species here described, *T. Aseroe*, is Malayan, and was discovered and first described by Beccari [1].

The plant consists of a system of branching, cylindrical, leafless, axial structures, which will be hereafter alluded to under the name of absorbing organs. These organs extend horizontally over a substratum of decaying leaves to which they are attached [2]. When the plant is in the flowering condition, an erect scale-bearing inflorescence-axis rises up from the creeping absorbing organ. This axis was tentatively described by Beccari as simple, and terminating in a solitary flower; but frequently it is branched. In my specimens a second flower was always visible in the axil of

[1] Beccari, Malesia.

[2] Mr. H. N. Ridley informs me that the plant lives in damp shady spots of the forest, and that the habit and habitat are as above described.

[Annals of Botany, Vol. IX. No. XXXIV. June, 1895.

one of the three scales forming an involucre beneath the terminal one: but there may be as many as three flowers in the inflorescence (Fig. 19). As is often the case with saprophytes devoid of chlorophyll, the general body of the plant is not white: in this instance it is pink.

Morphology of the Flower. (Fig. 20.)

The flower is orange-yellow in colour. The perianth forms a trumpet-like tube with six linear segments radiating from its summit like rays of a star. The six stamens are opposite the perianth-segments; they are inserted on the perianth-tube near the top, and are partially shaded by the thickened rim of the tube. The stamens hang down, and their connectives are dilated and, continuing below the anthers, cohere to form a tube. In fact the stamens are fused except at their points of insertion and at the apices of the connectives. Thus a tube is formed lying within the perianth-tube and open at both ends. This staminal tube is perforated at the top by six window-like narrow openings which are the gaps between the separately inserted stamens. The structure of the stamens is complicated and requires full description. Their structure on the face towards the centre of the flower is simple; they form a tube (with the above gaps) which has a plain surface merely rendered papillose by numerous blunt short hairs. This condition persists right down to the median free tooth which terminates the connective below. Looking through the tube from the inside not far below their point of attachment, the six anthers may be seen, and lower down, on radii alternating with the anthers, are six discoid opaque bodies—the nectaries. These last were seen and figured by Griffiths in *T. Brunonis*, but their nature was not understood by him. Both the anthers and the nectaries open towards the exterior, not towards the centre of the tube. Hence the anthers are really introrse though they open away from the centre of the flower. The structure of the stamens on their outer faces is complex.

Above is the short membranous filament which is attached both above and at its sides to the top of the tube of the perianth. So the filaments form six little dome-like chambers which stand over the six anthers. A transverse section taken through this region would show that there are two wings to the filament which already denote the method of formation of the staminal tube. Lower down, these wings meet and form a tube, and the pollen-sacs opening outwards (towards the perianth-tube) are visible. Below the anthers the fused wings continue, and form six furrows between the thickened ridges which are continued down from the anthers. In the middle of the furrows are long hairs which, I imagine, serve to catch the pollen. Descending lower the ridges become winged, and the two wings of the adjacent ridges tend to arch over the furrows. Below this the wings increase in size, and form six small tunnels in which lie the six nectaries. Each discoid nectary consists of a single layer of palisade-like, deeply-staining cells. Half of the disk belongs to one stamen and half to an adjacent one, and the line of fusion of the two stamens is recognizable, as is the distinct curvature of the nectariferous cells (Fig. 18). At the upper end of the tunnel the wings have long hairs which help to roof in the cavities in which the nectaries lie. Lower down the nectaries are replaced by hairs in the middle of the furrows, and the staminal ridges become much changed. They form curved plate-like outgrowths, attached above and at the sides, so that six little flattened dome-like chambers are formed, closed above but open below. The median free part of this curved plate-like outgrowth hangs down and is rolled slightly inward and has conspicuous long hairs at its margins. Continuing downwards, only the lateral walls of this open chamber persist. The staminal tube therefore exhibits at this point twelve little channels, the broader ones representing interstaminal radii, and the narrow ones the staminal radii. Below the connectives separate, and the lateral walls already mentioned end in conspicuous strong teeth or pegs. The median portion of the connective persists lower and tapers to a fine

tooth. The ovary is inferior, unilocular with three parietal placentae. The ovules have long filaments and develop very late. The style surmounted by three-segmented stigma is short, reaching up to the point of the terminal teeth of the connectives. The flower is proterandrous. It will be seen that both the pollen and nectaries are very completely hidden and protected. The structure of the flower suggests that it is cross-pollinated by means of small flies. I imagine that they crawl down the staminal tube, go on to the stigma as a landing-place at which to turn round in order to crawl up to the nectaries. It seems probable that they then walk up the nectar-tunnels, and being unable to turn round continue up and emerge through one of the six windows in the top of the staminal tube, accidentally taking, en route, some pollen either from the pollen-sacs or from the hairs on the furrows.

It is usually stated that the perianth-tube and the top of the ovary fall off together when the fruit is ripe. Such is not the case. The perianth wholly severs its connexion with the ovary before the fruit ripens, and subsequently the lid of the ovary separates as an operculum. (See Fig. 19.)

Histology of the Inflorescence-axis.

The inflorescence-axis at its base bears a few very small scale-leaves crowded together; higher up the scales increase in size and are separated by distinct internodes till close under the terminal flower there is an involucre of three relatively large scales.

The axis itself is not terete, but is more or less winged.

At the growing-point a *dermatogen* is visible, but in mature parts there is no definite regular epidermis preserved; a number of the cells have peeled off. The superficial cells have only a very delicate cuticle on their outer walls. They are narrow and elongated longitudinally. Fungal hyphae run over the surface but do not penetrate.

The cortex is composed of about ten layers of parenchymatous cells with not very small intercellular spaces. Amongst these cells are some raphide-mucilage sacs. At the base

where the axis is inserted on the absorbing organ, straight hyphae run longitudinally in the cortex and are continuous with the mycorhizal hyphae; they stretch only a short distance up the inflorescence-axis.

The *endodermal* cells are uneven in size: they have thin suberised walls; the lateral walls have the dots (which however are not invariably on walls actually radial).

The *stele* is considerably larger than in the absorbing organ. There is a single somewhat irregular layer representing the pericycle. Within are three collateral bundles and a parenchymatous pith.

The *phloëm* is tangentially extended, and consists of sieve-tubes with terminal plates, companion-cells, and less protoplasmic parenchymatous cells.

The *xylem* is better developed than in the absorbing organ. The protoxylem, represented by narrow disintegrating spiral and annular vessels, is not exactly radially internal to, but slightly on the side of the mass of xylem. Besides these vessels there are in each bundle 4–8 (in transverse section) broader intact spiral and annular tracheae, the segments of which are long and tapering.

Histology of the Scales.

The scales are simple in structure. An epidermis with thin cuticle and devoid of stomata covers a mesophyll consisting of two layers of large parenchymatous cells including small intercellular spaces. A single vascular bundle with xylem and phloëm runs up the middle of the scale. The only point of interest in the leaves is that they contain amongst the mesophyll-cells many raphide-mucilage cells, as is often the case with scales on the flowering axes of holosaprophytes.

Structure of the Absorbing Organs.

On a relatively main axis there are borne tufts of smaller branches, which are lateral absorbing organs, and young buds

of inflorescence-axes. The mode of growth is represented by Fig. 1. The axis grows by means of an apical growing-point, and on it arise, in acropetal succession, similar lateral branches. But at the points of insertion of these secondary axes, other branches arise subsequently on the side towards the apex of the main axis: so the false appearance is produced of a number of tertiary axes in the axils of the secondary. Of these tertiary axes one at least is a bud of an inflorescence-axis. As a rule the tertiary absorbing organs grow more rapidly than the buds; consequently distinct tufts of small absorbing organs are visible at regular intervals on the main axis. The main axis decays from behind, and it seems probable that its lateral absorbing organs thus become separate individuals.

Taking sections through a mature but not too old portion of a vegetative axis, the following structure is revealed (Figs. 2, 3, 4, 5 *a*, 5 *b*).

(1) *Sheath.*—There is no definite regular layer of cells clothing the surface. Some of the external cells are elongated at right angles to the surface and form short *hair-like outgrowths.* But often a delusive appearance of hair-production is caused by the cells, which are elongated longitudinally, partially separating from the subjacent cells and the free portion protruding outwards. A very feeble cuticle coats the outer walls of the superficial cells. Within succeed about 2–3 layers of cells with small intercellular spaces. They are elongated longitudinally. These and the cells exposed to the surface agree in being parenchymatous cells with thin cellulose-walls, having a delicate protoplasmic lining and a large amount of cell-sap, but no starch; in fact they might be described as constituting an aqueous tissue. They may be collectively referred to under the name of the *sheath.* Amongst the sheath-cells are raphide-mucilage cells. The most striking feature about this tissue is that *straight fungal hyphae* (mycorhizal) *run through some of the cells.* These hyphae traverse the centres of the cells running in a longitudinal direction with wonderful straightness. Here and there they

send off straight branches which run obliquely outwards or obliquely inwards (Fig. 2). There are in addition minute, blunt, nearly solid protuberances on the sides of the hyphae: these are arrested branches. The hyphae are mostly unseptate inside the sheath, but some of the older hyphae are divided by transverse walls. They are continuous with septate hyphae outside the plants and also with the hyphae occupying the deeper layers of the organ.

(2) *Exocortex.*—Within the innermost layer of sheath-cells a sudden and remarkable change in the tissue takes place. There succeeds a single unbroken and very regular layer of cells, with no intercellular spaces and having a quite different shape and strikingly different contents. These cells vary in form from narrow palisade-like cells elongated radially, to more or less square cells: but in any case they are much broader radially than the sheath-cells. They have thin cellulose-walls. But in their contents they form the greatest contrast to the sheath. *Every cell is almost filled with a coiled mycelium consisting of swollen irregular moniliform mycorhizal hyphae with densely staining protoplasm.* The protoplasm of the host-cell coats these hyphae and lines the wall; there is a conspicuous nucleus, and a relatively small amount of cell-sap. I pointed out that in the absorbing axes (root or stems) of holosaprophytic Orchids some of the outer tissue entertains living coiled mycorhizal mycelia, and that this tissue is sometimes differentiated even in the growing-point before the hyphae have reached it: to it I gave tentatively the name *exocortex*[1], and the same term may be employed to describe this single layer in the absorbing organ of *Thismia.* Very rarely one of the cells of this layer in *Thismia* is changed into a raphide-mucilage cell. No starch is found in the mature cells.

(3) *Limiting Layer.*—Within the exocortex a layer succeeds which again sharply contrasts with it. The cells are parenchymatous, radially flattened, smaller than the preceding,

[1] Percy Groom, Contributions to the Knowledge of Monocotyledonous Saprophytes, Journ. Linn. Soc., read Dec. 20, 1894.

slightly elongated longitudinally ; they include no intercellular spaces. They have thin walls of cellulose, and protoplasm lining the walls and coating the hyphae. The latter are widely different from those of the preceding layer; they consist of *very slender hyphae, often spirally twisted, which suddenly swell out into conspicuous intercalary bladder-like bodies often filled with densely staining protoplasm.* Usually there is only one, or at most two bladders, in one cell. The hyphae may be traced from the exocortex and from the deeper layers of cortex into this limiting layer.

(4) *Mediocortex.*—The next two layers of cells lying within are much larger, and are more or less isodiametral and hexagonal, or the inner slightly elongated longitudinally. The intercellular spaces are small. They contain *conspicuous dead yellow mycelial masses, consisting of portions of defunct hyphae which are connected by slender portions of hyphae with one another.* In addition these cells may contain large quantities of starch. Here it may be mentioned that the starch throughout the plant assumes a red colour with iodine, as is often the case with starch in holosaprophytes. In this region of the cortex there are a considerable number of large raphide-mucilage sacs. In accordance with the terminology before suggested, these two layers constitute the *mediocortex*, characterized by containing inert refractive fungal masses. In parts of the axis these layers are immediately succeeded by the endodermis; in other thicker portions there is a third layer of parenchyma with cellulose-walls; but in this third layer the cells are markedly elongated longitudinally, and as a rule they are utterly devoid of hyphae though often rich in starch.

(5) *Endodermis* consists of a somewhat irregular single layer of feebly protoplasmic cells with thin suberised walls displaying the radial dots. The cells are elongated in a longitudinal direction, but they are considerably smaller than the cortical cells outside them.

Central Cylinder.—The stele is very narrow in comparison with the well-developed layers of parenchyma constituting

the sheath and cortex. It commences with a single tolerably regular and typical *pericycle*, the cells of which are elongated longitudinally and are narrow.

Phloëm.—There are about 6–8 minute bundles of phloëm lying against the pericycle. Each group consists of 1–3 extremely delicate sieve-tubes with terminal plates, and 1–3 slightly wider protoplasmic cells representing companion cells (in transverse section).

The different bundles of phloëm are separated by parenchymatous conjunctive tissue, which also bounds them on their inner sides.

The *xylem* is reduced to a single axial strand of very narrow annular and spiral vessels, and slightly broader, more central, reticulate-scalariform tracheae. In transverse section the strand may exhibit as few as three vessels, but never more than eight.

The structure of the growing-point of this organ at once reveals the fact that the vegetative axis of *Thismia* is absolutely unique.

The *sheath* is continuous over the apex, and the actual tip of the organ ends in a collection of sheath-cells protruding as conspicuous hairs[1]. The meristem lies internally (Fig. 4), and though it is impossible to certainly distinguish the initial cells sufficiently clearly to conclude that there are three distinct histogens, still one can recognize that in the apical meristem three distinct tissues are differentiated very early—the *sheath*, the tissue extending from and including the exocortex to the endodermis, and the central cylinder. In fact the apex suggests that of an ordinary succulent monocotyledonous root, in which the absolute distinction into calyptrogen, periblem, and plerome is not obvious at the extreme merismatic limit. Thus the *vegetative axis is possibly a root in which the root-cap is preserved throughout life as a living and absorbing layer* which further acts as an aqueous tissue and entertains the symbiotic fungus. Some of its cells do, however, peel off and die, but the majority persist. If this interpretation

[1] Compare a haustorium.

be correct, then the *exocortex*, inasmuch as it is the outermost layer which soonest ceases undergoing periclinal divisions and becomes earliest sharply marked off from the cells produced by the calyptrogen, *is the original piliferous layer* (epiblema). Undoubtedly the cells which produce it also give rise to the layers as far as the endodermis, but it was impossible to see whether the initials of this layer and the cortex are absolutely distinct from those forming the sheath. The *limiting layer* then *corresponds with the exodermis*. The rest of the cortex is equivalent to the remaining cortical layers of an ordinary root. The section figured suggests that the plerome has initials of its own (Fig. 4). The structure of the central cylinder favours the view that this vegetative axis is a root. There is in other saprophytic roots, and in Burmanniaceae in particular, a tendency for the xylem-bundles to be developed towards the centre of the cylinder; and there is the further fact that the spiral and annular vessels tend to lie outside the scalariform-reticulate tracheides.

But another interpretation is possible, namely, that the vegetative axis is a rhizome in which the leaves are congenitally fused with the stem. This view may be illustrated by some examples which offer stages towards this process of fusion. On the tuberous rhizome of *Epipogum nutans*, the leaves are well developed but without vascular bundles, and their inner (upper) faces are so closely adherent to the axis that they have in sections to be separated by chemical means[1]. In addition the lower (outer) surface of the leaves is provided with numerous absorbing hairs. If we imagine this state in the ancestor of *Thismia*, and that gradually the leaves have become congenitally fused with the axis, the present structure would result. In this case the sheath represents the leaf-tissue, the exocortex represents the epidermis of the axis, the tissue within corresponds to the cortex and stele of the stem. This view is supported by the fact stated by Johow[2], that in

[1] Percy Groom, loc. cit.

[2] Johow, Die Chlorophyllfreien Humuspflanzen, &c. Prings. Jahrb. xx, p. 475.

Dictyostega orobanchoides (Burmanniaceae) the leaves of the rhizome do produce absorbing hairs and form the absorptive organs of the plant.

There is a third possibility, namely, that the vegetative axis is a rhizome in which the leaves have been completely suppressed. I have already shown that in a hemisaprophytic Orchid (*Corysanthes*) there is an atrophy in the leaves of the absorbing rhizome. In a later paper I shall show that the same atrophy has taken place in the green Burmanniaceae to such an extent that the leaves are mere microscopical scales (cp. *Psilotum*). Further, the structure of the stele in absorbing rhizome-axes of hemi- and holo-saprophytes is frequently remarkably like that of a root (*Corysanthes*, *Burmannia*, *Corallorhiza*), so the root-like nature of the stele of the absorbing organ is no proof of its root-nature. Nor is the position of the spiral and annular vessels absolute testimony that it is a root, for even in the inflorescence-axis of *Thismia* the protoxylem is not accurately radially within the phloëm and later wood; and in indubitably absorbing stems of saprophytes, the protoxylem often does not stand radially within the later formed xylem.

The fact that in some other Burmanniaceae the rhizome develops as an absorbing organ, is not of the slightest value as evidence that the absorbing vegetative axis of *Thismia* is really a rhizome. For amongst the Orchidaceae in some forms the root-system is entirely absent and the rhizome greatly developed as an absorbing and vegetative organ (*Epipogum*, *Corallorhiza*), whereas in other Orchids the roots are greatly developed and act as absorbing organs (*Galeola javanica*, *Neottia*, &c.).

But the structure of the growing-point, taken together with that of the stele, seems to me to point rather to the absorbing organ being a root, and not, as hitherto assumed, a rhizome [1]. However, it seems safer to call it a thallus.

[1] See Engler, Burmanniaceae, in Engler & Prantl's Pflanzenfamilien.

Origin of Lateral Members on the Vegetative Axis.

I did not succeed in finding any sufficiently early stages of the lateral absorbing organs, but their structure and attachment to the main axis suggest that they arise endogenously in that they arise from tissue lying deeper than the sheath. The scapes develop from cells which lie deeper than the sheath (Fig. 3). Beyond making this statement I can say nothing. The very young scape could be identified as such by the feeble lobes representing the primordia of the scales. Even when the scales were clearly differentiated the young buds could be seen covered with layers of cells belonging to some external tissues.

Development of the Mycorhizal Mycelium, and the Relations between it and the Nuclei of the Infected Cells of Thismia.

In view of the all-important functions ascribed to the nucleus of a cell, the question naturally arises as to the relation between the nucleus of the host-cell and the hyphae of the symbiotic Fungus. If the host-cells and the fungal hyphae do actually work in harmony, and if the nucleus be the guiding centre of a cell, we should expect that some intimate relations would exist between the host's nuclei and the guest's hyphae, and that possibly such relations would be reflected in the histological details of the symbionts. In the thallus of *Thismia* the coarseness of the hyphae, and their long persistence as distinct filaments, render investigation of this question simple.

The mycorhizal hyphae in the different layers of the thallus of *Thismia* may be traced to the apex as separate living hyphae which reach nearly as far as the dividing merismatic cells. *The hypha, then, does not enter a cell till the latter has finished dividing and already possesses a nucleus clothed with a distinct permanent membrane. Thus there is no evidence of any exchange of living nuclear material between guest and host.* My material was not fixed in such a manner as to enable me to assert or deny any protoplasmic continuity

between the cytoplasm of the host and that of the Fungus, but there never was any indication of such a connexion, though each hypha is externally coated from first to last by a sheath of cytoplasm.

The *differentiation of the definite layers of the thallus is not directly caused by the mycorhizal organism*, for the distinction of the various layers (sheath, exocortex, limiting layer, rest of cortex, and stele) appears in young portions of the apex before the hyphae have reached the cells of that region.

I did not trace the mode of entrance of the hyphae into the sheath-cells, but in all the deeper infected tissue the *Fungus enters the cell as a single slender hypha which at once grows directly towards the nucleus of the host-cell* (Figs. 6, 16). That it is not the nucleus which travels towards the hypha is shown by the fact that the nucleus preserves its original central position before and for some time after the hypha has reached it.

The later career of the mycelium represented by this single hypha depends on the position of the host-cell. As the subsequent changes are most clearly traceable in the inner layers of the cortex (mediocortex) an account will be given first of the development of the mycorhizal Fungus in this region.

Development and Fate of the Mycelia in the Mediocortex (Figs. 6–11).

With the penetration of the embryonic hypha, the starch-grains of the cell disappear never to return, or to reappear only when the hyphae are dead or dying. When treated with Gram's method (methyl violet) and cleared with oil of cloves containing eosin, the protoplasm of the hypha stains blue, and its numerous minute nuclei become deep blue; the cytoplasm of the cell and the main body of the cell-nucleus colour pink, but the nucleolus and some large granules in the nucleus stain deep blue. *The hypha having reached the nucleus commences to form a local pear-like or oval swelling against the nucleus.* This young bladder is really intercalary,

but as the hypertrophy is particularly on the side towards the nucleus, the thin continuation of the original hypha (i.e. the apical part) appears to spring from the young bladder at a point close to the insertion of the original slender portion of the hypha. The bladder gradually assumes a spherical form. At first it is filled with a densely pink-staining mass of cytoplasm with many nuclei. But as it attains larger dimensions vacuolation sets in. The bladder is now mature, and the further changes in it are associated with its waning vitality and death. Either the natural movements of the cell's protoplasm, or movements associated with the local hypertrophy of the hypha, cause the host's nucleus to shift its position in the cell. The young slender continuation of the original hypha now bends towards the cell-nucleus, and applying itself to the latter proceeds to form a second bladder. In the meanwhile great changes are taking place in the first bladder. Its protoplasm loses its staining intensity, diminishes in amount, and at the same time there is deposited in it a homogeneous yellow substance in which are rod-like bodies, which remind one of the regular rod-like 'bacteroids' in leguminous tubercles. This deposit appears always to commence at the proximal part of the bladder, and is not a product of the metamorphosis of the cell-wall, though it lies close within the wall and sooner or later is absolutely in contact with it. This substance gradually increases in size, the walls of the bladder collapse, and finally nothing remains but a shrunken wall covering a mass of homogeneous substance coloured by a yellow oil-like liquid, and containing numerous rod-like bodies. The older thin portion of the hypha shrinks too, and the yellow substance seems to block the connexion between its lumen and the thin portions of the hypha. So it is altogether inconceivable that any considerable conduction of liquids can take place along these thin portions of the hyphae. The second bladder soon passes through the same changes as the first, and a third bladder, or even a fourth and fifth, may be formed and repeat the process. But sooner or later the hypha passes through the cell-wall and enters

an adjoining cell which lies nearer the apex or is situated nearer the centre of the root. This young hypha again repeats the same history as in the preceding cell. Hence in the cells of the mediocortex, the youngest bladder is always to be found lying against the nucleus, although the nucleus does not preserve its original central position. In an old cell in which all the bladders are dead, the main mass of the cytoplasm, as also the nucleus and its bubble-like nucleolus, stain pink, but minute granules in the nucleus still stain blue, when treated with Gram's method as already described. No hyphae enter the raphide-mucilage sacs.

The Mycelia in the Sheath-layers.

The hyphae in the sheath behave very differently. The hypha runs straight through the middle of the cell in a longitudinal direction. The nucleus of the host-cell may be often seen lying close against this hypha. The hypha undergoes no local hypertrophies; it increases evenly in volume, so that an old hypha is merely stouter than a young one, and its contents do not stain so intensely blue. The mycelium in these sheath-layers is very long-lived, so that in old parts of the thallus it is still living and protoplasmic. There is at most a feeble deposit of excreta as represented by a more or less faint yellow colouration and minute yellow granular clumps in the protoplasm of the old hyphae.

The Mycelium of the Exocortical Layer (Figs. 12–15).

The hyphae of the characteristic exocortical layer are intermediate in behaviour between those of the sheath and those of the mediocortex. The slender hypha on reaching the nucleus does not at first undergo considerable local hypertrophy; it grows rapidly and coils about in the cell, and the older parts increase at first tolerably regularly in volume. It seems probable that the youngest part of the hypha always tends to follow the host's nucleus. For in sections one often sees this youngest part close to the nucleus, and frequently fails to find a young slender hypha distant

from the nucleus unless it be leaving the cell altogether. Eventually, however, distinct localized enlargements form on the hyphae, which thus assume bloated irregular moniliform shapes. The hyphae branch but feebly in these cells. The hyphae usually pass on to younger cells of the same layer, i.e. the hyphae tend to run longitudinally, but occasionally they send branches into the cells lying within, namely, the limiting layer. The mycelia live much longer than those of the mediocortex, and in old parts they may be found with deeply staining protoplasmic contents. When they do die, which is earlier than is the case with the mycelia in the sheath, there is little or no deposit of excreta, and all that remains of them is a shrunken clump of thin hyphal walls.

The Mycelia in the Limiting Layer (Figs. 15, 16).

The mycelia in the limiting layer in every way form a transitional stage between those of the exocortex and those of the mediocortex. The hyphae curve sharply, swell irregularly into one or two bladders which are formed only in contact with the nucleus of the host-cell; the unswollen portions retain their embryonic slender calibre. The bladders are not so regularly spherical as those of the mediocortex, but often the primitive egg-like form characteristic of their early state in the mediocortex persists. Furthermore these bladders preserve their protoplasmic contents much longer than do those of the deeper cortical layers; and often in old parts these densely protoplasmic bladders at first sight look like large single spores.

Previous Records of Formation of Intercalary Bladders on Hyphae of Mycorhiza.

The first record of intercalary hypertrophies of mycorhizal hyphae is that of Mollberg[1], who found them in *Platanthera bifolia* and *Epipactis latifolia*. He wrote: 'Es waren intercalare und auch terminale knopfförmige, aber auch lange

[1] Mollberg. Quoted in Wahrlich's paper.

keulige Auftreibungen, die auf den ersten Blick wie beginnende Sporenbildungen aussahen. Diese Gebilde traten auch kettenförmig hinter einander auf, waren reicher an Protoplasma als die Fadentheile und besassen grosse Vacuolen. In der Kultur wuchsen sie wieder zu gewöhnlichen Fäden aus, ohne sich zu Reproductionsorganen auszubilden.' W. Wahrlich[1] investigated other Orchids, and the first stage he found in the cortical parenchyma of the fungal clumps was a sac-like swelling of a hypha which soon gave off numerous branches. These latter finally form a close system of fine hyphae concealing the original sac. Kühn[2] showed that in the mycorhiza of Marattiaceae mycelial clumps occur with a central bladder-like sac; in fact are just like those described by Wahrlich. Kühn figures a cell from the mycorhiza of *Angiopteris evecta* as containing a bladder, also a hypha dilating into a terminal spherical body which is rich in protoplasm and possesses a large nucleus. This last he terms a spore with a large nucleus. But I have no doubt that the nucleus (as its size indicates) was really lying outside the spherical body and was the nucleus of the host-cell, and the sphere itself was nothing else than a young bladder. So it seems likely that in *Angiopteris*, too, the bladders form first in contact with the nucleus of the host-cell.

B. Physiology.

Discussion of the Behaviour of the Mycorhizal Mycelia.

The first prominent fact with reference to the mycelia of *Thismia* is that a young hypha on entering a cell grows directly towards the nucleus of the latter. There are two possible explanations of this phenomenon. It may be that the hypha grows in that direction for purely mechanical

[1] W. Wahrlich, Beitrag zur Kenntniss der Orchideenwurzelpilze. Bot. Zeit. 1886, p. 480.

[2] R. Kühn, Untersuchungen über die Anatomie der Marattiaceae und anderer Gefässkryptogamen. Flora, 1889, pp. 491–497.

reasons, because the currents in the cell set most vigorously towards the nucleus, and the hypha is carried with them, much as, in flowing water, a slender submerged stem has its young parts pointed down stream. The other possible explanation is that the hypha seeks the nucleus in virtue of its chemotropism, the chemotropically active substances being manufactured or accumulated in greatest quantities nearest the nucleus of the infected cell[1]. This second explanation appears to be the correct one, as will be seen from the following considerations. (i) The distribution of the endotrophic mycorhizal hyphae in a holosaprophyte suggests that we are dealing with a chemotropic phenomenon[2]. The coiled hyphae occur in some cells, but are absent from others equally accessible. They enter into cells of absorbing organs—roots, leaves, or stems—but avoid cells of organs which are not absorbing, whatever their morphological nature. And even in the absorbing organs the hyphae are absent from some cells (raphide-mucilage cells) though present in the contiguous one. (ii) Miyoshi[3] has shown that certain chemical bodies do exercise a directive influence on the hyphae of Fungi. (iii) There is evidence that absorption of plastic substances from the host-cell by the hypha takes place most vigorously near the nucleus of the cell. For in the mediocortex and limiting layer the bladders, at first full of protoplasm, form only in contact with the host's nuclei. We cannot explain this local hypertrophy of the hyphae as due to a stoppage of substances conducted inside and along the hyphae; because of the slender nature of the portions of the hyphae connecting the bladders with one another, and because of the early death and probably the complete occlusion of those portions. So we are compelled

[1] Of course it is equally conceivable that in one cell the hypha moves towards the nucleus in virtue of a repellent action of a substance which is consumed most rapidly near the nucleus. But, as will be seen later, this view would involve a number of complicated assumptions for which there is no evidence.

[2] Percy Groom, loc. cit.

[3] M. Miyoshi, Über Chemotropismus der Pilze. Bot. Zeit. 1894.

to conclude that the bladders are formed near the nucleus of the host-cell because it is at this point that the hypha is absorbing plastic substances most vigorously, and working them up into protoplasm more rapidly than they are conducted along the hypha. There is no indication of the wall of the hypha at this region being different in nature to the wall in the narrow portions of the hypha. (iv) Again, if the chemotropism of the hypha explains its growth in the direction of the nucleus, we may hope to find the same condition in other cases in which the Fungus is indubitably absorbing from the infected cell, i. e. in parasites. Rosen[1] observed in the parasitic *Puccinia asarina* that the haustorium nearly always grew towards the nucleus of the attacked cell, and becoming closely applied to it caused deformations of the nucleus, and even pushed deep into it, driving in the nuclear membrane. Professor Marshall Ward informs me that in *Hemileia* (of the coffee-disease) 'the haustoria often apply themselves to the nuclei of the host's cells.' The *growth of the hypha towards the nucleus of the infected cell in mycorhiza, then, is not any evidence that the relation between Fungus and host is friendly and symbiotic, but is rather an indication that the hypha is absorbing food from the cell in which it lies.* Still the apparent directive influence of the host's nucleus has been observed in other symbiotic forms. Professor Marshall Ward tells me that in the leguminous tubercles he found the hyphae (?) growing toward the nuclei. Schlicht[2] states that the mycorhizal hyphae in *Paris quadrifolia* often penetrate the nucleus. In Orchids it is easy to see that in mature cells the hyphae usually form a coiled mycelium around the nucleus, and Frank has pointed out that often the first trace of the mycelium is to be seen near the nucleus of the infected cell.

Thus a hypha enters a cell because it is attracted thither by a chemotropically active substance, and goes towards the

[1] Rosen, Beitr. zur Kenntniss der Pflanzenzelle. Habil.-Schrift, 1892.

[2] Schlicht, Beitrag zur Kenntniss der Verbreitung und Bedeutung der Mycorhiza. Inaug. Diss. 1889.

nucleus because that substance is present there in the optimum proportion in that cell. Miyoshi showed that the attractive action of a solution varies with its concentration, there being an optimum strength, but the repellent action of a solution which attracted when dilute only sets in at high concentrations. The question arises as to the source of this chemotropically active substance in *Thismia*. Obviously it is not conducted along the hyphae themselves, so it must be absorbed from the cell in which the hypha lies. It must therefore be either derived from cells lying outside, or be manufactured in the cell in which the hypha actually lies. I shall endeavour to show that the latter is the case. In the first place, if the substance came from cells lying exterior to the mediocortex or even exterior to the exocortex, we can conceive of no reason why the hyphae should penetrate these deeper tissues at all. On the other hand, we should expect to find the cells outside would be most richly supplied with hyphae and the deeper cells successively poorer in hyphae. The reverse is actually the case; every cell (excepting raphide-mucilage cells) from the exocortex to the inmost limit of the mediocortex contains hyphae, whereas comparatively few cells of the sheath have hyphae. Thus the chemotropic action of the *cells* is weakest in the sheath and strongest in the cortex. In the second place, inside a single cell the chemotropism towards the *nucleus*, as judged by the curvature of the hyphae towards the nucleus, is weakest in the sheath, and strongest in the mediocortex, whilst the exocortex forms a layer transitional in this respect. In the third place, it would be apparently contrary to the laws of osmosis that a liquid absorbed from outside a cell should accumulate in greatest concentration in the neighbourhood of the nucleus. But this is not a conclusive argument, because in plants we often find liquids distributed in a manner apparently in opposition to physical laws (e.g. sugar in nerve-parenchyma of leaves).

Thus we are driven to conclude that the *chemotropically active substance attracts the hyphae, and is manufactured in the cell infected, and particularly in the vicinity of the nucleus of*

that cell; and that this substance is constructed most feebly in the sheath, and most vigorously in the mediocortex.

But the influence of the nucleus of the host-cell is marked in another direction. Near it, in the mediocortex and exocortex, the bladders with their rich proteid contents form; that is, there is abnormal thickening of the hyphae. Miyoshi, in the paper already quoted, shows that increasing the concentration of the nutritive liquid (which also acted chemotropically) causes a corresponding increase in the thickness of the hyphae. This at once rouses the obvious suggestion that in the mediocortex the protoplasmic bladders form near the nucleus of the cell, because it is at that point that the essential nutritive solution is most concentrated. Comparing the cells of the mediocortex and of the sheath, the effect of the position of the nucleus on the thickening of the hypha is greatest in the former and least in the latter. And in the mediocortex there is evidence that the substance absorbed from the host-cell, leading to the formation of protoplasm, is present in largest quantity in the mediocortex, and in smallest quantity in the sheath; for the hypha in the sheath does not branch and scarcely thickens, but in the mediocortex great absorption and thickening of the hyphae take place. Hence, adopting the same line of argument as was used with reference to the chemotropically active substance, the conclusion is reached that *for their thickening and the manufacture of protoplasm the hyphae are dependent upon supplies of a nutritive substance manufactured by the infected cell, and particularly in the vicinity of the nucleus of that cell; and that this substance is constructed most feebly in the sheath, and most vigorously in the mediocortex.* In this respect, too, the exocortex is transitional between the sheath and mediocortex in that a hypha, having entered the cell, does not at once pass out, nor does it describe sharp curves, but forms broad sweeps and slow curves round the nucleus, and in addition to undergoing general thickening (contrast mediocortex) it exhibits slight local dilatations (contrast sheath). These last are formed presumably at points which once were actually nearer the cell's nucleus, or physiologically so

in virtue of being the points at which the cytoplasmic strands connecting the hypha and nucleus attached themselves to the former.

It will be seen that the chemotropically active substance and the substance which is absorbed as food by the hyphae have the same distribution, and are both manufactured in precisely the same spots and in the same proportion. This at once suggests that the two are identical, that one substance causes both effects. However this may be, the theory here given of the behaviour of the hyphae leads to the conclusion that the cortex and the sheath are strongly contrasted as regards their metabolic processes; that in particular the cortical cells manufacture certain substances, or a substance, lacking nearly or entirely in the sheath. This contrast is indeed a matter of fact. For the young cortical cells contain a rich store of starch which only disappears when the hyphae enter, and which may reappear when the hyphae die: whilst the sheath-cells are always devoid of starch; or occasionally some of the cells of the innermost layer of the sheath possesses starch; and, precisely corresponding with this fact, it is not rare to find some of these innermost cells of the sheath possessing hyphae exactly like those of the exocortex, in which case the nuclei of these cells are larger and more deeply staining than the cells with only straight hyphae. Again, the sheath-cells are poor in protoplasm, but the cortical cells have an ordinary amount.

The behaviour of the mycelia, then, strengthens the view that *the nucleus of a cell is the centre of certain metabolic changes;* and, conversely, any observations tending to prove this action of the nucleus render the explanation above given more worthy of credence. Klebs' observations, though not confirmed as of general significance by Palla and Acqua, show that the manufacture of one carbohydrate—the cell-wall—is influenced by the nucleus. Further, he demonstrated that in the leaves of *Funaria hygrometrica* pieces of protoplasm devoid of a nucleus did not make starch, though they were capable of assimilating. In young cells of higher plants the chromato-

phores seem always to aggregate round the nucleus, and starch therefore frequently appears first in this circumnuclear region. So there is evidence that in plant-cells the manufacture of solid carbohydrates is influenced by the nucleus. But Demoor, by the use of chemical substances (chloroform) and by intense cold, succeeded in producing in *Spirogyra* a peculiar condition of the cell, in which the nucleus divided, but the cell-wall was not formed between the two nuclei. However this observation does not prove that the nucleus was the only active part of the protoplasm, nor does it necessarily imply, on the other hand, that we must ascribe to cytoplasmic activity any initiatory share in the formation of the cell-wall. Haberlandt showed as a matter of fact that the nucleus of plant-cells often wanders towards that part of the cell-wall at which irregular thickening is taking place; and this observation seems of more value than those in which the protoplasm was brought into a pathological condition by excision of the nucleus or use of abnormal stimuli. Animal physiologists have also conducted observations which have led them to conclude that the nucleus influences, or even controls, the metabolism of a cell in some directions (processes of secretion of calcium carbonate, mucilage, and animal cuticle [1]).

To sum up: *the distribution, form, and mode of development of the mycorhizal hyphae of Thismia are dependent on their constant chemotropic character, on the location of the cell infected, and on the metabolic processes taking place in that cell, particularly near its nucleus.*

And doubtless this generalization holds, at any rate for orchids and Marattiaceae. For in the mediocortex the mycelia only differs from those in *Thismia* in that numerous slender hyphae grow out from the primary bladder, and in the subsequent changes said to occur in these hyphae.

[1] Max Verworn, Allgemeine Physiologie, contains references to all the papers quoted. M. Verworn puts forward the view that the nucleus influences the metabolism of a cell in a manner analogous to a chloroplast. See his article Die Physiologische Bedeutung des Zellkerns, Pflügers Archiv, Bd. li. pp. 1–118.

In most saprophytes the hyphae of the endotrophic mycorhiza do not enter parts of the shoot which are not absorbing. This is presumably because the chemotropically active substance, if present at all, is only extremely dilute and rapidly consumed by the host. If this view be correct we might expect in *Thismia* that any mycorhizal hyphae entering the inflorescence-axis would assume the form of the sheath-hyphae. This is in fact the case, as was mentioned earlier in the paper. Further, in Fig. 3, it can be seen that, as the cortex of the thallus approaches continuity with the parenchyma of the primordium of the inflorescence-axis, the hyphae in the limiting layer of the former assume the characters of the exocortical hyphae: and the hyphae in the exocortex become straight. Employing a high-power objective it could be further seen that at the base of this primordium of the bud, in the cells continuous with the mediocortex, the hyphal-bladders became fewer and the hyphae more uniform. These facts, I think, dismiss the suggestion which might be made, that the different behaviour of the hyphae in the various layers of the thallus is due, not to any distinction in the metabolism of the cells, but to the circumstance that, as the hyphae penetrate the deeper tissues, they may become more irritable to chemotropic stimuli.

Physiological Significance of Endotrophic Mycorhiza.

The precise source of the foods of guest and host in mycorhiza has hitherto not been ascertained, neither has proof been given of any reciprocal interchange of nutritive substances between the two. The large dimensions of the hyphae in *Thismia* and their feeble branching in a cell rendered them peculiarly suited for such observations. Hence some comments on the physiological significance of mycorhiza may be of interest, particularly as the conclusions drawn differ considerably from those taught by Frank, who has recently devoted much attention to the subject.

Frank gives two entirely different interpretations of the significance of the two forms of mycorhiza—ectotrophic and

endotrophic. With regard to the ectotrophic mycorhiza, he appropriates Kamienski's theory that the Fungus prepares food for the host; and in particular supposes that the Fungus assimilates, partly for the benefit of the host, humous compounds. But the endotrophic Fungus he regards as a living organism captured by the host. He says[1], 'Denn der Pilz ist hier gleichsam in den Wurzelzellen gefangen, wo er als sichere Beute zuletzt von der Pflanze aufgezehrt wird. Die Erscheinung entspricht, mutatis mutandis, genau dem Insectenfang der sogenannten insectenfressenden Pflanzen, und wir können daher die endotrophen Mycorhizen als *Pilzfallen* und die betreffenden Pflanzen als *pilzverdauende Pflanzen* bezeichnen.' He then goes on to say that it is probable that the hyphae receive the whole of their nutriment directly from the external substratum, not from the host. His theory, or rather definite statement, is based upon observations made on roots of *Orchis*. He states that in the cortex the protoplasm of the hyphal clumps is drained out of the hyphae, and all the proteids resulting pass into the cells of the host; and that finally the hyphal clump consists solely of the walls of the hyphae. His evidence for these statements is that with increasing age the hyphal clumps gradually lose their power of staining with anilin-blue. Admitting this diminution of staining power and that it is due to a disappearance of proteid, still Frank fails to exclude the possibility that the proteid might be converted into cell-wall or into additional yellow excretion; nor does he show that the proteid in older parts might not have been conducted away along the slender portions of the hyphae to younger hyphae, as is often the case with the hyphae of any ordinary mycelium. Still it is quite possible that Frank may be correct in his assumption, though not in the dogmatic expression of it as a proven fact. But with regard to his analogy of endotrophic mycorhiza with an insectivorous plant some remarks are called for. A captured insect derives all its food from the outside world

[1] Frank, Lehrbuch, p. 267. See literature given also.

and none from its captor; and further it is entirely consumed by the latter, nor has it a chance afforded of propagating its species after capture. Do these two conditions hold for the endotrophic Fungus?

With reference to the absorption of food, it has been shown earlier in this paper that the *hyphae absorb food manufactured by the cortical cells in the mycorhiza of Thismia*, and that this absorption by the hyphae is accompanied by a large increase in their protoplasm. Now the hypertrophied hyphae (in the cortex, and occasionally in the inner cells of the sheath) are only found in cells which, before the hyphae entered, contained starch. When the hyphae penetrate these cells the starch disappears, and does not reappear in them till there is evidence that the hyphae cease, or almost cease, manufacturing protoplasm. In the mediocortex, as bladder after bladder forms in a cell, starch remains absent, but when the formation of new bladders stops and the hyphae all die, starch may reappear[1]. These facts tend to show that the *starch disappears and remains absent because the carbohydrates are being consumed in the production of proteids*, and not because the cell ceases to be able to manufacture carbohydrates. But this does not imply that the soluble carbohydrate (sugar) is absorbed as such by the hypha. It may be that the hypha merely causes more vigorous osmotic currents to the cell which entertains it, and thus brings a larger supply of nutritive material, which with the carbohydrate forms proteid in the cell. Or it is possible that the sugar is directly absorbed by the hypha, and the proteid built up in the hypha. Both soluble carbohydrates and soluble proteids act chemotropically on fungal hyphae. But whether it be proteid or simply carbohydrate (sugar) which is manufactured near the host's nucleus and is then absorbed by the hypha, the co-operation of the cell and hypha has three effects. First, as evidenced by the increased size and staining

[1] I have noted the same fact in orchidaceous mycorhiza, that starch appears in the old cells of the mediocortex when the hyphal clumps are dead. So Frank is incorrect in saying that starch is not present in cells containing the fungal hyphae.

powers of the nucleus of the cell[1], there is an *increase in the metabolic activity of that cell.* Secondly, there is a sudden *rise in the assimilation of nitrogen which exhibits itself in the rapid synthesis of proteids.* Thirdly, the *carbohydrate manufactured by the host is concerned in the formation of proteid in the mycelium.*

After a time the protoplasm of the hypertrophied bladder in the mediocortex diminishes in amount; and, *pari passu*, there is a deposition in the bladder of a yellow mass with rod-like bodies. This yellow mass with the bodies is absolutely useless to the host; for, as the mycorhiza decays, these masses remain unaltered though the protoplasm of the dying host-cells is conducted away, and at the exposed and disintegrated surface of the decayed mediocortex the yellow masses may be recognized. Hence the *protoplasm of the hyphae in the mediocortex is partially broken down into resistent excreta absolutely useless to Thismia.* As the protoplasm of the bladder is vanishing and the yellow mass appearing, the bladder shrinks and its wall collapses. A liquid therefore leaves the bladder. Now evidence has been given earlier in this paper that the liquid is not conducted away along the slender portions of the hyphae, because they die soon and are occluded, and because they always are slender in calibre. Hence it must be concluded that the *moribund mycelium pours a liquid into the host-cell.* As to the nature of this liquid one cannot do more than guess.

Thus it is established that in the mediocortex of *Thismia* there is an interchange of material between Fungus and host, and that that material is manufactured by the two symbionts respectively. In the Orchidaceae, in *Paris*, Marattiaceae, &c., doubtless there is likewise an absorption on the part of the hyphae of substance manufactured by the host; for there are indications of the effect of the nucleus of the cell on the

[1] Compare the researches of animal physiologists in showing that the size and staining power of a nucleus is a good index of the metabolic activity of that cell (Heidenhain on secretory cells, Hodge and G. Mann on nerve-cells).

growth of the hyphae, as there are indubitable proofs of the influence of the hyphae in leading to an increase in the size and staining powers of the nuclei. So there is no reason to doubt that the symbiosis in the mediocortex of these plants has the same significance as in *Thismia*.

To sum up, then. *Although the hyphae of endotrophic mycorhiza in the mediocortex die soon, the root (or rhizome) cannot be said to act like the digestive organ of an insectivorous plant, because the protoplasm of the hyphae is manufactured partly at the expense and through the agency of the host;* and, further, there is, at present, no direct evidence that the hypha renders its proteid contents to the host.

The second point with reference to Frank's analogy may be now considered. Is the organism (Fungus) completely killed by the host (root or rhizome)? The evidence all seems to point in the other direction. In all the Orchidaceae and Burmanniaceae I have examined, in all the cases of orchidaceous saprophytes investigated by others, and in endotrophic mycorhiza generally, it appears that there are in the outer layers of the absorbing organ hyphae which live as long as the organ itself. They are many of them continuous with hyphae entirely outside the host, and extending out into the substratum. The number and development of these hyphae extending outside the plant varies much in different plants, often being inconsiderable (*Thismia* and some Orchids). It seems probable, therefore, that Frank is correct in regarding these free hyphae as not of supreme importance in supplying nutriment to the mycorhiza, though they often ramify closely over dead vegetable fragments (*Thismia*). In *Thismia*, in particular, the whole surface of the thallus appears capable of absorbing liquids; and here also the existence of a sheath renders possible the observation that *frequently the free hyphae are deserting the host*, not entering it, a fact which seems to give the key to the puzzle. In all the cases of saprophytes with endotrophic mycorhiza which I have observed, the free external hyphae can be traced continuously from the substratum into cells capable of manufacturing

starch. In *Thismia* they continue from the exterior into the exocortex with undiminished general calibre. From this layer no plastic material can be conducted along and inside the hyphae to the dead mediocortical hyphae. On the other hand, food can easily be transported along the wide hyphae towards the exterior. Plastic material is undoubtedly being continuously absorbed from the host by the exocortical hyphae, for starch does not appear in the infected cells (though it frequently is found in the limiting layer cells, in which the bladders still have their dense protoplasmic contents). Hence it is safe to assume that *the exocortical hyphae act as haustoria for the benefit of the hyphae lying in cells outside them.* These external hyphae, then, derive from the host a considerable amount of nutriment, which enables further growth into the substratum outside the host. This method of regarding the significance of the hyphae of the sheath and exocortex is strongly supported by additional facts referring to *Thismia.* As was before stated, the old end of a thallus gradually decays. As the parts die the cells lose their turgidity and collapse, so that the whole organ, in that region, shrivels to a mere thread. In such disintegrating parts proteid contents may be seen in the exocortical hyphae, even after the death of the cells which entertain them, and subsequent to the complete disappearance of the proteid contents of those cells. But these hyphae eventually die and their walls become thick and glistening. The hyphae of the sheath die still later, and in dead parts of the thallus living hyphae may be traced continuously from them to the outside of the plant. In these dying and dead parts I found numerous cells, particularly superficial cells, crowded with fungal spores produced by hyphae which could be traced into the deeper layers of the sheath, and also were continuous with hyphae ramifying over the surface of the organ. These hyphae were indistinguishable from the normal mycorhizal hyphae, excepting that they did not run straight in a longitudinal or longitudinal-oblique direction in the sheath. In spite of the fact that my sections showed the two sets of hyphae coming close together, I could

not actually establish their continuity. Hence I cannot positively assert that the spore-producing hyphae belonged to the mycorhizal Fungus, yet there seems little doubt that such was the case. If the sporogenous hyphae were really a part of the mycorhizal mycelium, their irregular direction of growth must be attributed to the removal of the directive influence of the host-cells and to the breaking down of the protoplasm of the latter. If, on the other hand, the sporogenous hyphae belong to some other Fungus which could not enter the thallus as a parasite till the latter had already lost some of its vitality and the mycorhizal hyphae were already weakened, then the obvious analogy between the symbiosis of mycorhiza of *Thismia* and phagocytosis becomes still more marked. In *Galeola javanica* I further saw some of the superficial cells packed with similar spores. Wahrlich observed and figured spores, just like those in *Thismia*, in the velamen of Orchids infected with mycorhizal hyphae; and further was able to prove that they were produced by segmentation of the hyphae and rounding off of the cells (i. e. this represented the oïdium-stage of life-history), as I also believe was the case in *Thismia*. But Wahrlich makes no definite statement that he actually observed the continuity between the mycorhizal hyphae and these spore-producing hyphae, though one reading his paper would gather that he had seen such a connexion. Mollberg also saw similar spores in the mycorhiza of *Platanthera* and *Epipactis*. Kühn detected, inside Marattiaceous mycorhiza, some thick-walled spores. Schacht, Reissek, and Wahrlich obtained *Fusisporium*-spores from cultures of orchid-mycorhiza; and I saw these *Fusisporium*-spores on every thallus of *Thismia*. However, apart from this suggestive, though not conclusive, evidence of spore-production by the mycorhizal hyphae, there is quite sufficient proof that the *endotrophic Fungus is not wholly destroyed, but on the contrary there is strong reason for believing that in the outer layers of the absorbing organ it actually profits by the symbiosis.*

Hence there is no justification for giving the misleading name of fungus-trap (*Pilzfalle*) to mycorhiza, or for referring

to the host as a fungus-digesting plant (*pilzverdauende Pflanze*).

Having dismissed the first part of Frank's view as to the biological significance of endotrophic mycorhiza, the second question arises, 'Is there any sufficient reason for his assumption that the physiological meaning of the endotrophic is different from that of the ectotrophic mycorhiza?' Three series of facts all point in the same direction in answer. First, all known holosaprophytes (with one exception?) possess mycorhiza; but it may be either ectotrophic (*Monotropa*, &c.), or endotrophic (Orchids, &c.). Secondly, in Ericaceae, Epacridaceae, &c., though the mycorhiza is endotrophic, the hyphae do not penetrate deeper than the superficial cells of the root. This type may be regarded as affording a transition-stage between the complete endotrophism of Orchids and *Thismia*, and the ectotrophic condition of *Monotropa*, forest-trees, &c. Thirdly, in endotrophic mycorhiza it is often the case that many hyphae radiate out into the substratum; on the other hand, in the ectotrophic mycorhiza, hyphae frequently penetrate the superficial cells of the host's root (at any rate in older parts of the root); and in the ectotrophic mycorhiza of *Pinus* roots, which is occasioned by *Polysaccum*[1], some of the hyphae actually dip deep into the tissue of the root, at the same time absorbing so vigorously as to play havoc with the infected tissues. Thus in ectotrophic mycorhiza the hyphae are not always epiphytic, nor in endotrophic mycorhiza are they exclusively endophytic.

Hence *the distribution of the two forms of mycorhiza and the occurrence of transition-stages between their extreme forms militate against the view that the physiological significance is not the same in both.* They both probably work in one general constant manner. Mycorhiza is, then, either a highly adapted and symbiotic community beneficial to both symbionts, or it is a pure matter of infection of a plant by a Fungus, and there is a constant struggle between host and the would-be parasite.

[1] E. Bruns, Beitrag zur Kenntniss der Gattung *Polysaccum*. Flora, 1894, pp. 67–75.

At present the weight of evidence seems to lie on the side of the symbiotic view. In favour of it are Frank's rough observations on forest-trees deprived of the Fungus, and the facts given with reference to *Thismia* showing that there is a mutual interchange of material. The distribution of the hyphae, however, might as readily be explained on the infection-view as on the symbiotic theory, now that it has been shown, at any rate in endotrophic mycorhiza, to be as largely a matter of chemotropism.

Viewing the mycorhiza of *Thismia* as a case of symbiosis between host and Fungus, it will be seen that there is one point of strong similarity to the symbiosis between low Algae and nitrogen-fixing Bacteria, and to the relation between the Fungus of leguminous tubercles and the host, namely, that there is an increased assimilation of nitrogen and manufacture of proteids. In his beautiful piece of work on a nitrogen-fixing Bacterium, Winogradski showed that the amount of nitrogen fixed was proportional to the amount of dextrose supplied. Transferring this idea to the case in which Bacteria and Algae together fix free nitrogen, it seems fair to conclude that the Alga supplies the carbohydrate. Again, leguminous plants may be cultivated in ordinary water-cultures and tubercles develop. Here the carbohydrate is indubitably supplied by the host, and Professor Vines' experiments showing that adequate illumination was essential to ensure the development of tubercles are thus explicable[1]. With regard to ectotrophic mycorhiza on green plants, there is no evidence that the Fungus absorbs carbohydrates from the host, though there is the collateral evidence in green Orchids that in endotrophic mycorhiza carbohydrates are absorbed (cp. remarks on *Thismia*). It is easy to comprehend the advantage of this arrangement accruing to a mycorhizal Fungus on a green plant which can assimilate carbon dioxide. But does the

[1] Professor Vines informs me that he has found that when Beans are germinated and grown in the dark, tubercles are developed on the roots of the seedlings: it would appear that, in this case, the necessary carbohydrate is supplied from the reserves in the cotyledons.

same hold for hosts which have no chlorophyll? Now Acton [1] has shown that certain carbohydrates and bodies like carbohydrates, including extract of humus, can be absorbed by roots of ordinary green flowering-plants and assimilated. Combining Acton's results with those of Boehm and Meyer, we assume that this assimilation is absolutely independent of light or chlorophyll. So it is *a priori* probable that flowering-plants devoid of chlorophyll can also utilize such organic compounds to supply themselves with carbohydrates, and in particular to build up starch. In this paper I show that the Fungus in the holosaprophytic *Thismia*, in fact, does derive its carbohydrate, largely and possibly entirely, from its host. Altogether there is much to indicate the probability that in all cases of symbiosis between a Fungus (including Bacteria) and another plant, the Fungus receives carbohydrates from its symbiont.

Again, we know that Fungi (including Bacteria) can readily utilize unoxidized or feebly oxidized compounds of nitrogen (NH_3, HNO_2) and sulphur (H_2SO_3, $H_2S_2O_3$), which are less easily, or not at all, assimilable by green plants; and on the other hand that Fungi wholly or partially lack the power of employing nitrates, or to less degree sulphates, as food. In the cases of symbiosis of Bacteria and Algae, and in the leguminous tubercles, there is, despite of Frank's researches, sufficient reason for the belief that the fixation of free nitrogen does not take place in the absence of the Bacterium or Fungus. This fact, together with the sudden increase of assimilation of nitrogen as shown in *Thismia*, suggests that in symbiosis the Fungus always absorbs, for the benefit of the community, unoxidized or feebly oxidized nitrogenous bodies which are not easily worked up by the host. This would explain the utility of mycorhiza to plants growing in the shade of the forest or devoid of chlorophyll, and with their absorbing organs dipping in humus. Fresh humous bodies are characterized by their poverty in nitrogen of any sort; and what is

[1] Acton, The Assimilation of Carbon by Green Plants from certain Organic Compounds: Proc. Roy. Soc., vol. xlvi, p. 118, 1889.

present is in the form of ammonia and feebly oxidized organic compounds. And, again, Schimper's[1] observations show that the reduction of nitrates, sulphates, and possibly phosphates, by higher plants is dependent on the co-operation of light and chlorophyll. Further, the suggestion that the Fungus is supplied direct from the substratum with its nitrogen in the form of feebly oxidized nitrogenous bodies finds support, I think, from Professor Vines'[2] observations showing that the development of tubercles in the Leguminosae is inversely proportional to the amount of nitrate supplied to the plants. Here the nitrate is easily assimilated by the well-lighted leguminous plant itself, and is rapidly conducted away from the roots, whereas it is probable that the Fungus, like a typical Fungus, does not readily accept nitrates as food[3].

But I hope soon to publish some experimental results confirming or disproving these hypotheses.

In conclusion I desire to express my thanks to Mr. H. N. Ridley for the material used in this investigation, and for the coloured illustration of the whole plant, which was drawn by the Singapore artist De Alwis; also to Professor Vines for the continued hospitality which permitted the carrying out of this research in the Botanical Laboratory of the University of Oxford.

[1] A. F. W. Schimper, Zur Frage der Assimilation der Mineralsalze durch die grüne Pflanze. Flora, 1890, p. 207.

[2] S. H. Vines, On the Relation between the Formation of Tubercles on the Roots of Leguminosae and the Presence of Nitrogen in the Soil. Annals of Botany, 1888, p. 386.

[3] Lawes & Gilbert suggest, too, that ectotrophic mycorhizal hyphae enable the plant infected to acquire nitrogen otherwise not easily assimilated by the plant.

EXPLANATION OF FIGURES IN PLATES XIII AND XIV.

Illustrating Mr. Groom's paper on *Thismia Aseroe* (Beccari) and its Mycorhiza.

Abbreviations.—*e.c* = exocortex. *en.c* = endocortex. *end.* = endodermis. *l.l.* = limiting layer. *m.c* = mediocortex. *p.c* = pericycle. *ph* = phloëm. *ph.s* = sieve-tubes.

Figs. 1–16. Illustrations of the structure of the thallus, or absorbing organ.

Fig. 1. Showing base of inflorescence-axis (*f.a.*) ×4.

Fig. 2. Longit. section rendered slightly diagrammatic. (Zeiss A. Oc. 4, then reduced to $\frac{2}{3}$.)

Fig. 3. Trans. sect. showing endogenous origin of inflorescence-axis rendered slightly diagrammatic. (Zeiss Apo. 16 mm. Comp. Oc. 4.)

Fig. 4. Longit. median section of growing-point. (Zeiss Apo. 8 mm. Comp. Oc. 8, then reduced to $\frac{2}{3}$.)

Fig. 5 *a*. Trans. sect. of central cylinder. (Zeiss D. 3, then reduced to $\frac{2}{3}$.)

Fig. 5 *b*. Trans. sect. of portion of 5 *a*. (Zeiss D. 3).

Fig. 6–11. Successive stages of development of hyphae in cells of mediocortex: longit. sect. (Fig. 9. Zeiss D. 3, all the rest Zeiss $\frac{1}{12}$ oil. Oc. 2.)

Fig. 12. Cell of exocortex before entrance of hypha: longit. sect. (Zeiss $\frac{1}{12}$ oil. Oc. 2.)

Fig. 13. Ditto shortly after penetration of hypha. (Magn. ditto.)

Fig. 14. Longit. sect. of 2 cells of exocortex representing the third and fourth stages of development of the hyphae. (Zeiss $\frac{1}{12}$ oil. Oc. 2.)

Fig. 15. Longit. sect. showing a cell of exocortex with hyphae not far from maturity, and two cells of the limiting layer representing the third and fourth stages of the hyphae. (Zeiss $\frac{1}{12}$ oil. Oc. 2.)

Fig. 16. Longit. sect. showing the first and second stages of development of the hyphae in two cells of the limiting layer. (Magnification?)

Fig. 17. Trans. sect. of the central cylinder of the inflorescence-axis. (Zeiss D. 3, and subsequently reduced to $\frac{2}{3}$.)

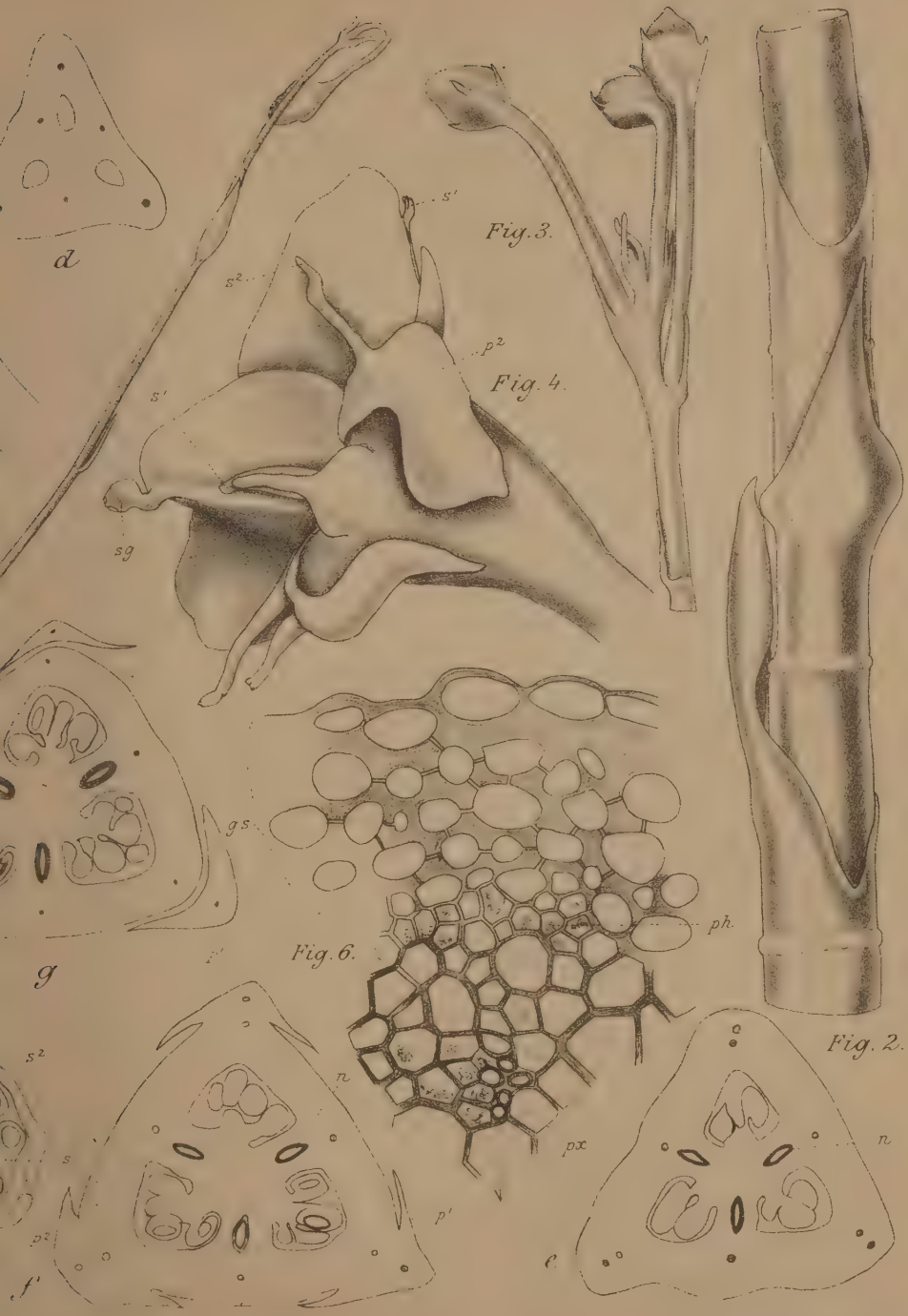
Fig. 18. Trans. sect. of part of staminal tube, showing lobes forming an arch over a nectary.

Fig. 19. Whole plant, showing its habit and the substratum of decaying leaves. (Nat. size. Drawn by De Alwis.)

Fig. 20. View of the staminal tube from the outside after the removal of the perianth-tube. (Magnified. Drawn by Mr. A. H. Church.)

Groom del

GROOM.—ON A NEW SAPROPHYTIC MONOCOTYLEDON.



University Press, Oxford.

On a New Saprophytic Monocotyledon.

BY

PERCY GROOM, M.A., F.L.S.

With Plate III.

IN 1871 Beccari[1] described a Bornean plant under the name of *Petrosavia stellaris*; he referred the plant to the Melanthaceae, and mentioned that it was parasitic on roots. Later Mr. H. N. Ridley[2] discovered on the Malay Peninsula a very similar plant, which, without a minute examination of the flowers, seemed to be identical with *Petrosavia*. From his material I gave an account of the seed and embryo[3]. Recently Mr. Ridley was good enough to send me some more material of this plant with flowers. On investigating the flowers by means of microtome-sections, I found that the floral structure was very different from that assigned to *Petrosavia*. As none of Beccari's plants were available for examination, it seemed improper to assume that his description was imperfect: so a new name has been given to the plant—*Protolirion paradoxum*. Still Beccari's figures of *Petrosavia* agree closely with Mr. Ridley's plant; and if

[1] O. Beccari, *Petrosavia*, Nuovo Genere di Piante Parassite della Famiglia delle Melanthaceae. Nuov. Giorn. Bot. Ital. T. 3, 1871.

[2] H. N. Ridley, reprint from Proceed. Asiat. Soc. Singapore, Vol. xxiv, p. 170.

[3] Percy Groom, Botanical Notes, No. 3, p. 380; Annals of Botany, Vol. vi. 1892.

[Annals of Botany, Vol. IX. No. XXXIII. March, 1895.]

Beccari's description be incorrect, the plant is doubtless merely another species of *Petrosavia*, the characters of which would require emendation. Hence any observations on the morphology and nature of *Petrosavia* are of interest.

Beccari described the plant as parasitic on roots. Now there are many saprophytes, devoid of chlorophyll, amongst Monocotyledons, represented by all the Triuridaceae, nearly all the Burmanniaceae, and many Orchidaceae[1]. Dismissing the Corsieae, which are doubtless saprophytes, the remarkable fact becomes apparent that there is but one stated monocotyledonous parasite—*Petrosavia*. However, when it is borne in mind that for a long time botanists had failed to recognize the existence of many holosaprophytes, having assumed that those known were parasites, it would not be surprising to find that the same mistake had been made with regard to *Petrosavia*, especially as Beccari assumed that saprophytic Burmanniaceae and Triuridaceae were parasitic. So I asked Mr. Ridley if he would specially note whether or not the roots of his plant were connected with the roots of any other plants. In response Mr. Ridley pointed out the extreme difficulty in proving a negative when dealing with such fine roots, but he stated that he failed to detect any parasitic connexion. It may be stated at once that the histological evidence afforded by *Protolirion* goes to show that its ally *Petrosavia is a saprophyte*.

Beccari gave a brief description of the histology of the stem of *Petrosavia*. He says, 'Una sezione transversale del caule presenta esternamente una parte corticale formata da 4–5 strati di cellule assai grandi, poi viene un intiero e largo anello di fibre liberiane che in circa 9 punti, discosti fra di loro, si cambiano in fasci fibrovascolari; il centro è ripieno da tessuto midollare molto lasso.'

[1] Mr. J. G. Baker has kindly directed my attention to a probably saprophytic Iridaceous plant from Madagascar—*Genosiris aphylla*, Baillon. Bull. Linn. Soc. Paris, No. 145.

External Morphology.

The plant has a slender subterranean rhizome, closely beset with very small sheathing leaves (Fig. 1). From this rises up the simple scape which bears a corymbose raceme of flowers at its apex. Attached to the rhizome are the lengthened stumps of one or two older scapes; probably, then, *Protolirion* is a perennial. The successive scapes appear to arise in the axils of the lowest scales on the preceding scapes.

As the plant is entirely devoid of chlorophyll, all the leaves are reduced to small scales. On the rhizome and bases of the scapes they are sheathing and completely conceal the axis. Ascending the scape, the scales gradually become separated by longer internodes, lose their sheathing bases, and assume a longer and more slender form (Figs. 1, 2).

Long, delicate roots, very feebly branched, spring from the rhizome, and particularly from the base of the scape. (In Fig. 1 all the roots except the lowest two arise from the flowering axis.)

Histology.

1. *The Root.*

I had very few intact roots at my disposal, in fact only some of those shown in Fig. 1. For the most part the terminal portions had been broken off. In the single apex investigated there were remains of a *root-cap*. Although the pieces of uninjured roots were of considerable length, there were *no traces of haustoria*.

(1) The root is clothed externally by a single layer of cells with thin walls which represents the piliferous layer. There are *no root-hairs*. This layer soon becomes disintegrated and replaced functionally by—

(2) The *exodermis*, which takes the form of a single layer of cells with thin suberized walls. No passage-cells were to be seen. This layer is succeeded by—

(3) Four to five layers of cortical parenchyma the cells of which have walls of cellulose. Most of these cells contained *coiled mycorhizal hyphae*, even so far as the endodermis.

The central cylinder is very small.

(4) The *endodermis* forms a characteristic layer of cells of the C-type with greatly thickened, stratified, and suberized inner walls (Fig. 5). The cells are elongated in the direction of the long axis of the root. There are no passage-cells; and it is obvious that liquids cannot pass easily into the central cylinder from the parenchymatous cortex.

(5) The *pericycle* forms a single well-defined layer of longitudinally elongated cells with lignified walls of average thickness. In longitudinal sections the nuclei are seen not to be elongated longitudinally, but more or less square.

With the meagre supply of material, it was difficult to establish any clear facts as to the arrangement and differentiation of the narrow constituents lying within the pericycle.

(6) *Phloëm* (?). In transverse sections, at about four points, there were minute groups, each including three to four very narrow cells with thin walls of cellulose (Fig. 5, *ph*). They were all elongated longitudinally; and some, at least, possessed very long strap-like nuclei. I did not succeed in detecting sieve-tubes.

Excepting these phloëm-cells (?) all the remaining tissue within the pericycle is lignified.

(7) *Xylem.* There are clearly marked conducting constituents represented by narrow tracheides with oval or slit-like bordered pits, or loose reticulate thickenings. Fig. 5 shows that midway between the supposed groups of phloëm, the cells abutting on the pericycle are smaller and more isodiametral than the cells contiguous to the phloëm (?); they probably represent the small outer extremities of the rudimentary radial groups of xylem: for in longitudinal sections tracheides are seen in direct contact with the pericycle, as are also cells with oval nuclei.

(8) The larger central cells, with lignified, simply pitted walls, have nuclei and are elongated longitudinally and represent the conjunctive tissue.

II. *The Stem*—A. *The Rhizome.*

(1) The *epidermis* consists of elongated cells with fairly thin walls and a distinct cuticle. *No stomata occur.*

(2) It is succeeded by about four layers of *cortical parenchyma*, the cells of which have thin pitted cellulose-walls. Within lies—

(3) A *general sclerenchyma-sheath* about four cells in thickness. The cells composing it are sclerenchymatous fibres. The outermost layer is tolerably regular and simulates the endodermis of the root. The remaining three layers of cells have evenly thickened pitted walls, and possess only small lumina.

(4) The *vascular bundles* are arranged close within the general sheath and are numerous.

Each full-sized vascular bundle is still small but possesses well-marked phloëm- and xylem-portions (Fig. 6).

The *phloëm* is constituted of narrow sieve-tubes with transverse plates, and elongated parenchyma-cells in which no differentiation of companion-cells was visible.

The *xylem* has long tracheides with transverse pits, fibres, and a protoxylem of a few narrow loose spiral vessels about which lie elongated narrow parenchyma having thin walls, with wide shallow pits. The intercellular spaces around the spiral vessels are very small.

(5) The *pith* consists of broad parenchymatous cells with thin pitted lignified walls. The cells are elongated in the direction of the axis. The conjunctive tissue connecting the pith with the general sheath is constituted of cells which gradually change from the typical pith-cells to sclerenchyma-fibres as they approach the sheath.

B. *The Scape.*

The structure of other parts of the stem is in all essentials identical with that of the rhizome. Ascending the axis, the cells decrease in size and number. The outermost layer of the general sheath loses its likeness to the endodermis, and as the leaves decrease in number the vascular bundles naturally become fewer.

Close under the flowers the axis is triangular in cross-section. The cortical layers are reduced to two or three in number. The general sheath is triangular also in the section, and two to three layers in thickness. Within the three angles of the sheath are three pairs of larger bundles, the bundles lying within the sides of the triangle being smaller.

III. *The Leaf* (Fig. 7).

The leaves are more or less closely pressed against the axis.

Each consists of a lower (outer) and an upper (inner) epidermis, with a certain amount of undifferentiated mesophyll in which runs the single vascular strand which enters the leaf.

The *epidermis* consists of typical cells, and towards the margins its two layers compose the whole thickness of the leaf. *Stomata* occur only in the lower (outer) epidermis, and solely in that portion which covers the midrib.

The *mesophyll* forms a sheath round the vascular strand in the midrib, and suddenly thins off towards each side. So that the greater part of the leaf consists simply of two layers of epidermis with here and there a single or double layer of mesophyll-cells. The walls of all the mesophyll-cells are thin but lignified, excepting in the immediate neighbourhood of the midrib, where the walls consist of cellulose.

The cells in the outer (lower) half of the leaf in this region contain excreta, especially in the form of raphides enclosed in mucilage. The adjacent parts of the axis may be quite devoid of raphides. This recalls the same distribution in

some holosaprophytic Orchids [1], and further suggests that the scales function as excretory organs. The occurrence of stomata also in the same Orchids seems to imply that the leaves function as organs by which any excess of water is excreted.

The *vascular strand* has an incomplete and rudimentary sclerenchymatous sheath which is more strongly developed on the lower (outer) side. It is composed of *phloëm* with sieve-tubes and much parenchyma, and *xylem* with a few narrow spiral tracheides, and a considerable quantity of elongated parenchyma with thin cellulose-walls.

IV. *The Inflorescence and Flowers.*

The flowers are arranged in a corymbose raceme (Fig. 3). In my specimens there were never more than four flowers on one scape. The flowers are actinomorphic, hermaphrodite, and regularly trimerous (Fig. 4).

The *perianth* is composed of two whorls of three segments each. The free portions of the outer three are narrow, and are open in aestivation. The free portions of the inner whorl are much broader and larger, and are valvate in aestivation. The lower portion of the perianth is adnate to the wall of the ovary. In the case of both whorls of the perianth, just below their entirely free portions their margins are distinct and separate from one another, but their inner (upper) faces are fused with the wall of the ovary (Figs. *f*, *h*). This interesting case is sufficient to prove that, in this instance at any rate, *the wall of the inferior portion of the ovary is partially formed by the perianth,* and that it is not composed simply of the original carpellary tissue together with an adherent excavated receptacle.

The three smaller segments become entirely free at a lower level than do the three broader, and are attached lower down. They therefore represent the outer whorl.

[1] Percy Groom, Contributions to the Knowledge of Monocotyledonous Saprophytes. Read before the Linnæan Society, Dec. 20, 1894.

Androecium. There are two trimerous whorls of stamens, the anthers of which are basifixed, sub-introrse (in the bud condition), and have four pollen-sacs each. Those which represent the *outer whorl* are opposite to the three outer segments of the perianth, and are *inserted on the wall of the ovary*, at a lower level than the *three inner stamens*, which are *inserted on the bases of the inner segments of the perianth* (Figs. *b*, *c*, *h*, *k*).

Gynaeceum. The pistil is remarkable in at once showing a transition from an apocarpous to a syncarpous type, and from a free to an adnate ovary. The lower portion of the ovary is inferior, trilocular, with two double rows of horizontal anatropous ovules attached to the axile placentae (Figs. *a–k*).

Above, the ovary separates into three distinct ovuliferous follicle-like portions which gradually pass into three short styles capped by papillose capitate stigmas (Figs. *a*, *b*, *c*, *l*).

Nectaries (Figs. *b*, *c*, *e–h*). There are three septal nectaries which open opposite the segments of the inner whorl of the perianth, slightly above the highest point at which the latter are coherent to the wall of the ovary. They are three simple unbranched sacs, extended radially, and reaching down not quite so far as the chambers of the ovary. They are lined by a single layer of palisade-like secreting cells, which have densely staining contents and conspicuous nuclei. The cuticle of these cells is raised even in the bud-condition of the flower. No mechanical cells strengthen the nectariferous tissue.

Fruit. The free portions of the gynaeceum dehisce like three follicles, and allow the escape of the seeds from the lower part of the ovary also.

Seeds. These were described under the name of *Petrosavia*[1]: they are ribbed, albuminous, and with a very minute undifferentiated embryo.

[1] Percy Groom, loc. cit.

General Remarks on Protolirion.

A. *Vegetative Structure.*

The structure of the roots tends to show that *Protolirion* is not a parasite. No connexion between them and other plants could ever be seen, nor any trace of the existence of haustoria. On the other hand, the root structurally agrees with that of a saprophyte (cp. Burmanniaceae; *Triuris* and some species of *Sciaphila*; Gentianaceae) in the following points: (1) absence of root-hairs, (2) presence of a well-developed cortex, containing endotrophic mycorhiza, (3) small size of the central cylinder, and the minuteness of the vessels. The whole central cylinder of these relatively long roots is less in size than is one single fair-sized vascular bundle of the rhizome, which suggests, not conduction of nutritive solutions along the cylinder, but a general absorption taking place over the whole surface of the root.

B. *Flowers.*

Beccari gives the following generic characters as characteristic of *Petrosavia*, and I have italicised those which do not agree with *Protolirion*: 'Perigonium trigonum 6-partitum, persistens coloratum, *inferum*, phyllis inaequalibus, 3 exter. minoribus angustioribus basi omnibus connatis. Stamina 6, phyllis opposita et *eorum basi inserta*: filamenta subulata; antherae biloculares apici acutiusculae basi bilobae, basifissae, introrsae. *Ovaria tria*, perigoni phyllis angustioribus opposita, *ex ima basi libera* sessilia follicularia erecta; *stigmata sessilia vix incrassata*, papillosa; ovula horizontalia, anatropa, placentis 2, latis, marginalibus et ventralibus bi–triseriatim adfixa. Fructus trifollicularis, folliculis siccis, horizontalibus, sutura ventrali hiantibus . . . . Praefloratio valvaris.' The rest of the description agrees, as far as it goes, with the parts represented in *Protolirion*.

The peculiar transitional state of the gynaeceum (aposyncarpous, adnate-free) is of interest. From this it is impossible to form any idea as to the affinity of the plant. Beccari placed *Petrosavia* amongst the Liliaceae which typically have separate styles and often follicular fruits (old order Melanthaceae). *Protolirion* is still more like such forms as the Veratreae and Tofieldieae, in that the pistil is not completely apocarpous. In the Veratreae there are forms with half-adnate ovaries (*Stenanthium* and *Anticlea*).

The structure of the wall of the adnate portion of the ovary shows that the adnation is in this case caused by actual fusion of the floral whorls with the wall of the originally free ovary. The free basal margins of the adnate portions of the perianth further suggest that the plant is derived from forms with superior ovaries rather than a degenerate type of some family of plants with inferior ovaries.

Protolirion agrees in habit and structure of its seeds with Triuridaceae and Burmanniaceae; and it is interesting to note that it stands midway between them in the character of its gynaeceum. This coincidence is the more striking when it is remembered that some systematists (Eichler and others) view the Burmanniaceae as forms lying between the Liliaceae-Amaryllidaceae and the gynandrous family Orchidaceae. In *Protolirion* there is a commencement of the gynandrous condition, for the three outer stamens are attached to the wall of the ovary.

The occurrence of septal glands collaterally throws light on the affinities of *Protolirion*. Such nectaries are known only in the Monocotyledons, and solely in Liliaceae, Haemadoraceae, Iridaceae, Amaryllidaceae, Bromeliaceae, and Scitamineae[1]. As we cannot judge the affinities of *Protolirion* by its embryo, and the absence of a cambium might be merely a degenerative change, there would be nothing to prove that *Protolirion* was not a trimerous Dicotyledon. But the presence of septal glands, with monocotyledonous floral characters,

[1] Grassmann, Flora, 1884, pp. 113–134.

makes it certain that the plant is a Monocotyledon. Septal glands are not present in the flowers of all the genera in the families mentioned ; as far as observation has gone they are notably absent from those Liliaceae which have three styles or a branched style (Melanthaceae). So the apocarpous condition of the upper portion of the pistil of *Protolirion* may be a partial reversion from syncarpy to apocarpy, associated with the peculiar habit of the plant (cp. modified flowers of parasites amongst Dicotyledons).

Affinities of Protolirion. It is difficult to decide where to place this simple form. On the one hand its incipient gynandry may be but an unimportant and casual factor, which will be found to recur in some other forms which have a half-inferior ovary. Yet it may be of deeper significance in suggesting that the Orchidaceae are more closely allied to plants with a superior ovary than to forms with an inferior ovary—in particular that they were derived rather from the Liliaceae than from the Amaryllidaceae. In habit, structure of the seed (no doubt partially the effect of its saprophytism), and in the partially apocarpous condition of its pistil, *Protolirion* vividly recalls the Triuridaceae. The latter have diclinous flowers, and indefinite one-ovulate separate carpels : but though diclinous, rudiments of the gynaeceum and the stamens are frequently present in the male and female flowers respectively. And dicliny appears in the Liliaceae, particularly in the Veratreae, some of which are polygamous. So no great stress can be laid on this difference. The distinction as regards number of carpels, their structure and ovulation, finds analogies in Ranunculaceae and Nymphaeaceae : and the semi-adnation is repeated in syncarpous Veratreae.

But the flowers, fruits, and seeds of *Protolirion* taken together resemble those of the Veratreae, and particularly the Tofieldieae, more than they do those of any other plants.

So *Protolirion* may be regarded as closely related to the archetype of the Liliaceae, and connecting the modern Liliaceae with the Triuridaceae. The transition between

these two families is even more completely illustrated if *Petrosavia* has indeed an apocarpous pistil; and one would feel inclined, in spite of its monocliny, eumery, and multiovulate carpels, to include *Petrosavia* in the Triuridaceae.

This investigation has been carried out in the Botanical Laboratory of the University of Oxford, and I desire to express my appreciation of the facilities which have been placed at my disposal.

Mr. H. N. Ridley has been good enough to prepare the following technical description of the plant, based on observations of his own as well as on mine, and to append a brief note:—

Protolirion, gen. nov.

Herba saprophytica parva perennis, omnino pallide ocreo-flava, rhizomate gracili sublignoso 1–3 pollices longo, 1 mm. crasso. *Caules* 1–7 laterales erecti graciles teretes saepe flexuosi. *Folia* squamiformia, ad basin caulis congesta, superne remota, inferiora 2 mm. longa, vaginis teretibus oribus integris, laminis lanceolatis obtusis caule appressis, carinatis; superiora vaginis multo brevioribus internodia 5 mm. longa haud tegentibus, laminis angustioribus acuminatis acutis $3\frac{1}{4}$ mm. longis. *Racemus* corymbiformis ad sexflorus. *Flores* parvi flavi patentes, pedicellis 10 mm. longis suberectis. *Bracteae* singulae lanceolatae obtusae bifidae. *Sepala* anguste linearia-lanceolata acuminata parva. *Petala* majora ovata obtusa alterna. *Stamina* 6, tria epigyna, tria epipetala, petalis breviora, filamentis teretibus crassiusculis superne attenuatis, antheris oblongis basifixis loculis ad basin divergentibus, in marginibus dehiscentibus. *Nectaria* tria petalis opposita. *Pistillum* basi inferiore perianthio adnato syncarpo, superne superius liberum, apocarpum, carpellis 3 distinctis patentibus folliculariibus in stylis brevibus attenuatis stigmatibus capitatis papillosis. *Placentatio* axillaris. *Ovula* in seriebus duabus anatropa. *Capsulae* ovoideae recurvae patentes in margine superiore dehiscentes. *Semina* in carpello utroque 12 elliptico-

oblonga nodulosa brunnea albuminosa, embryone minuta. Alabastra ovoidea, praefloratione valvata.

Sp. unicum, *P. paradoxum.*

Loc., Malay Peninsula, in dry hill woods at an altitude of from 1,000 to 3,000 feet on the Larut Hills, Perak, and on Kedah Peak in Kedah. Coll. H. N. Ridley.

I published a short account of this plant in the Journal of the Straits branch of the Royal Asiatic Society, No. xxiv, pp. 170–2 (dated 1891), under the name of *Petrosavia*, thinking at the time it was identical with the plant described under this name by Beccari. Beccari's plant, however, though in many respects resembling this, is in some most important details very distinct, as shown in the preceding remarks by Mr. Groom. It is very difficult to refer *Protolirion* to any order; possibly it is most nearly allied to Triurideae.

H. N. RIDLEY.

EXPLANATION OF FIGURES IN PLATE III.

Illustrating Mr. Groom's paper on *Protolirion.*

p^1 = outer perianth-segments. p^2 = inner perianth-segments. s^1 = outer stamens. s^2 = inner stamens. *sg* = stigma.

Fig. 1. Whole plant. (×3. Winkel.) *m. a.* = main axis. a'' = axis on *m. a.* a''' = axis arising on a''.

Fig. 2. Portion of the scape above ground. (×15. Winkel.)

Fig. 3. Inflorescence. (×5. Winkel.)

Fig. 4. Flower, after fertilization of the ovules. (×15. Winkel.)

Fig. 5. Transverse section of portion of central cylinder of root. (Zeiss $\frac{1}{12}$ immers. Oc. 2). *ph* = phloëm (?). *xy* = xylem-rays (?). *end* = endodermis. *pc* = pericycle.

Fig. 6. Transverse section of a vascular bundle and portion of the general sheath of rhizome. (Zeiss 3. DD.) *g. s.* = general sheath. *ph* = phloëm. *px* = protoxylem. Arrow points radially inward.

Fig. 7. Transverse section of leaf embracing rhizome. (×9. Winkel.)

Figs. *a*, *b*, *c*. Longitudinal sections of flower. (×20. Winkel.)

Figs. *d–l*. Transverse sections of flower. *n* = nectary.

Fig. *d*. Through the base of flower, showing loculi of ovary. (×25.)

Fig. *e*. Higher up showing septal glands, loculi of ovary, and vascular bundles. (×25.)

Fig. *f*. Higher than *e*, shows commencement of outer perianth. (×25.)

Fig. *g*. Higher than *f*, shows outer perianth free from ovary-wall. (×25.)

Fig. *h*. Higher than *g*, shows inner perianth, and outer stamens appearing. (×20.)

Fig. *k*. Higher than *h*, shows both perianth whorls free, outer stamens free, and inner stamens appearing, nectaries disappeared, and carpels commencing to be distinct from one another. (×25.)

Fig. *l*. Section high up flower, through three styles. (×25.)

[*Extracted from the* Linnean Society's Journal—Botany, vol. xxxi.]

Contributions to the Knowledge of Monocotyledonous Saprophytes.

By Percy Groom, M.A., F.L.S.

[Read 20th December, 1894.]

(Plates IV.–VI.)

Saprophytes may be defined as plants which are dependent for their existence on the presence in the substratum of decaying organic matter. Like parasites, they may be divided into those which possess chlorophyll (hemisaprophytes) and those which have none (holosaprophytes).

So far, very few experiments have been conducted on hemisaprophytes; and we are dependent for our assumption that such plants exist upon the fact that in some plants which are always found growing in humous substrata the amount of chlorophyll is small (species of *Corallorhiza*?), or that the allies are holosaprophytic, or that attempts to cultivate the plants in the absence of humus have failed (Cupuliferæ), or, finally, that peculiarities of structure characteristic of holosaprophytes appear in certain forms always found in situations rich in humus (absence of root-hairs in certain terrestrial orchids and gentians). Thus, our acquaintance with hemisaprophytes is largely speculative. And the present remarks refer almost entirely to holosaprophytes, or at least to plants with scarce a trace of chlorophyll.

Holosaprophytes amongst Monocotyledons are found only in the Orchidaceæ, Burmanniaceæ, and Triuridaceæ *. They are all plants characterized by possessing leaves in the form of small scales, and a simple undifferentiated embryo.

Hitherto only a few of these have been investigated as regards the histology of their vegetative organs. Schacht and Irmisch made some observations on European orchidaceous holosaprophytes (*Epipogum*, *Corallorhiza*, *Neottia*) (1); Prillieux and Drude on *Neottia* (2); Reinke on *Corallorhiza* and *Epipogum* (3); Johow on various Orchidaceæ, Burmanniaceæ, Triuridaceæ, and Gentianaceæ (4); Poulsen on *Triuris* and *Sciaphila* (5, 6). Johow gives a complete summary of his own extensive work

* I think it possible that *Petrosavia* is a saprophyte, not a root-parasite. In this case the Liliaceæ must be added to the list.

and that of others on holosaprophytes belonging to Monocotyledons and to Dicotyledons. This summary may be briefly given here.

1. There is a tendency for the root-system to diminish greatly in surface till roots may be entirely absent. But exceptions exist in all the monocotyledonous families; for long fibrous roots may occur, or a close system of many short roots.

2. The root-system, or the rhizome replacing it, often assumes a coral-like or stellate form.

3. No fully-developed root-hairs occur in any saprophyte with the exception of *Sciaphila Schwackeana*.

But hairs functioning as root-hairs are well developed on the rhizomes of *Corallorhiza innata*, *Epipogum aphyllum*, and *Dictyostegia orobanchoides*.

4. As regards the outer layer which persists over the root, no general rule prevails.

5. The cortex is greatly developed in the roots of all saprophytes, and is formed of cells in regular circles or radii.

6. Concerning the endodermis, no general rule prevails.

7. Pericycle is a distinct layer in monocotyledonous roots; but not so in the Dicotyledons.

8. As regards the central cylinder: in all holosaprophytes, with the exception of *Neottia nidus avis* and *Sciaphila caudata*, deviations from the normal type occur. The modifications consist either in reduction in the vessels, or in a changed grouping in the xylem and phloëm, or in incomplete differentiation of the procambium.

9. Mycorhiza is present in all holosaprophytes excepting *Wullschlægelia*.

10. The structural modifications in the shoot are not nearly so striking as those in the root.

11. The epidermis of holosaprophytes has no stomata. But in *Epipogum aphyllus* the subterranean parts have stomata.

In the cortex of the floral axis colouring-matters are usually present; the intercellular spaces are small because of the absence of chlorophyll.

The mechanical system of the floral axis is in all cases restricted to a general sheath of sclerenchyma, on the inner side of which the vascular bundles lie.

The vascular bundles in the rhizome and floral axis are usually

abnormal in structure. The peculiarities arise from the changed grouping of their constituents or from their reduction.

As will be seen later on, some of these generalizations remain no longer true.

Special Work on Orchidaceous Holosaprophytes.

History.—A brief summary of our knowledge concerning the histology of orchidaceous saprophytes may be formed by a reference to the accounts of *Corallorhiza*, *Epipogum*, *Neottia*, *Wullschlægelia*, and *Pogoniopsis*.

In *Corallorhiza innata* and *Epipogum aphyllum* the plant consists of a subterranean rhizome and a flowering axis. (There may be a small remnant of a root—"Keimaxe"?)

Corallorhiza innata is said to possess chlorophyll in small quantity. The *rhizome* has small scale-leaves; and on it are small conical papillæ which bear hairs functioning as root-hairs. An epidermis covers a cortex which is differentiated, according to Reinke, into three portions:—

(1) An outer portion composed of cells containing hyphæ and starch.

(2) An intermediate portion the cells of which contain yellow slime (mycelial masses, P.G.) but no starch.

(3) An inner portion again containing starch. Here and there radial strands of starch-containing cells connect the inner and outer portions of the cortex. Starch disappears from the rhizome as the inflorescence-axis shoots up, but reappears as the fruit is forming.

An endodermis surrounds the central stele of the rhizome. Within this Reinke describes two groups of spiral vessels and 3–5 groups of phloëm on the same or on different radii. The phloëm, he says, is composed of narrow prosenchymatous cells with somewhat thickened walls which are separated from the endodermis and from the wood-vessels by cells with delicate walls.

A single vascular bundle runs from each scale on the rhizome, and consists of wood-vessels surrounded by phloëm-cells.

In the *inflorescence-axis* a general sclerenchyma-sheath includes a single circle of vascular bundles. Each bundle is composed of phloëm-cells which surround and separate one to two groups of wood-vessels (*Reinke*).

In Epipogum aphyllum the scales on the rhizome are more

reduced than those of *Corallorhiza*, and there are no leaf-trace bundles. The scales are visible only at the growing point (*Reinke*). Histologically the cortex of the *rhizome* agrees with that of *Corallorhiza*. But Reinke says that in the central cylinder there is no distinction into phloëm and xylem; the vascular tissue, he states, is represented by a homogeneous mass of prosenchymatous cambiform cells.

In the *inflorescence-axis* there are several circles of vascular bundles in which phloëm and xylem are distinct.

De Bary states that stomata occur in the rhizome of *Epipogum aphyllum*.

Drude, in 1873, issued a monograph on Neottia Nidus-avis, adding to the observations of Schacht and Prillieux on the morphology of this plant. He also made a number of observations on the assimilation of carbonic acid by the plant, under the belief that *Neottia* contained chlorophyll. He came to a conclusion that *Neottia* does assimilate carbon dioxide.

Histology of the Inflorescence-axis.—Outside is epidermis with no stomata. Then follow several layers of elongated cortical parenchyma. The ring of vascular bundles is embedded in a general sheath of sclerenchyma-fibres. Some of these bundles have xylem radially exterior, as well as interior, to the phloëm. The xylem consists solely of vessels.

The scale-leaves have no stomata, and several vascular bundles traverse them.

Histology of the Rhizome.—The rhizome structurally agrees in the main with the inflorescence-axis. But vascular bundles going to the roots traverse the cortex; and several layers of cells near the epidermis contain a brown substance (mycelial masses).

Within the epidermis lie 2–3 layers of cells similar to it, then come 1–2 layers of larger cells containing the brown substance. The rest of the cortex is rich in starch. A general sheath of sclerenchyma, two circles of vascular bundles (smaller than in the stem), and ground-tissue which in the centre forms a pith, complete the structure.

Histology of Roots.—A root-cap is present; within the epidermis succeed two layers similar to it; then two layers of larger parenchyma with brown substance. And within these lie layers of parenchyma which contain starch, and gradually diminish in size till the innermost form a sheath around the "central vascular bundle" (*sic*).

In the "central bundle" (central cylinder) the masses of xylem form numerous isolated groups which sometimes fuse into long masses. The centre is formed of parenchyma rich in starch. Phloëm devoid of starch forms a peripheral tissue of elements with narrow lumina.

Johow describes the roots of *Neottia Nidus-avis* as typical in structure and triarch. According to him, the central cylinder commences with an unthickened endodermis, within which lies a pericycle. He says nothing with reference to the minute histology of the phloëm, but figures the xylem without giving details. No exodermis is present. In Johow's figures one can recognize three outermost layers of cortex without mycelia; then 2–3 layers with mycelia; and within six layers with no mycelia.

Wullschlægelia, Johow says, possesses two sorts of *roots*:—(1) Thin filamentous roots of normal pentarch structure with an exodermis and a transitory epidermis. (2) Fleshy roots with flagelliform appendages in which transitions from a pentarch to a triarch central cylinder are seen. The *stem* of *Wullschlægelia* has normal vascular bundles.

Of Pogoniopsis, Johow remarks that the central cylinder in the *root* is reduced. In the centre are two or three wide wood-vessels. The pericycle is invested by a weakly thickened irregular endodermis. The cortex consists of 3–4 layers of cells. There is no exodermis. The epidermis persists, and some of its cells form short blunt root-hairs. In the *inflorescence-axis* a ring of vascular bundles lies against the general sclerenchyma-sheath. In the vascular bundles phloëm and xylem are differentiated.

Thus, in Johow's work the important question as to the minute histology of the vascular bundles is left all but untouched. In particular, no details concerning the composition of the phloëm are given.

Present Observations.

Galeola javanica, *Benth. & Hook. f.* (Cyrtosia javanica, *Blume*).

This plant was first described by Blume under the name of *Cyrtosia javanica*. It was not included under the genus *Galeola*, because its fruits are succulent, and are said not to dehisce. But Sir Joseph Hooker points out that *Galeola Lindleyana* (*Cyrtosia Lindleyana*, Hook. f. & Thoms.) has fleshy fruits which exhibit no signs of dehiscence till old and dry; and even then the valves

frequently do not separate wholly. Hence no sharp distinction between species of *Galeola* with dry dehiscent fruits and species with succulent fruits can be maintained.

Blume's original description may be here given in so far as it refers to the vegetative characters :—

"*Habit.* In Javâ occidentali, in saltibus altiorum montium, veluti in monte Salak, supra agros coffeâ consitos elevatiores, ubi variis anni temporibus hanc plantam florentem fructibusque onustam indagavi.

"*Descr. Planta* carnosula, *Orobanchis* nostris habitu simillima.

"*Radix* fibris creberrimis crassis carnosis cylindricis aut claviformibus in fasciculum congestis inæqualis longitudinis constans.

"*Caules* plerumque ex eadem radice, spithamei, arrecti, simplicissimi aut in ramos aliquot alternos erecto-patentes divisi, ex tereti subangulati, rubicundi, ætate purpurascentes, inferne glabri ac nitidi, apice papilloso-scabridi. Pro foliis squamæ subcarnosæ, alternæ, ovatæ, acutæ, concavæ, ejusdem coloris ac caules, sed quæ ad basim eorum sunt, majores magisque approximatæ, in fuscum vergentes."

This description may be supplemented by a few explanatory remarks.

The subterranean part of the plant is not simply a massive root-system, but is made up of a short irregular rhizome on which are densely set the large, club-shaped fleshy roots, scales and scale-bearing buds of varying size.

The stems to which Blume alludes are the inflorescence-axes, which alone are visible above ground. The scales on them are decurrent (woodcut 1).

My material consisted of one plant with an inflorescence-axis, and bearing three large succulent fruits. And all the observations relate to this plant. In addition, I had another plant which was much smaller and younger. In this plant (fig. 1) there was also one inflorescence-axis surmounted by a number of floral buds. In external morphology and histologically it agreed with *Galeola javanica*, and its flower-buds were those of an orchid. It undoubtedly belonged to the same genus; but as it possibly might be another species, I shall throughout the paper describe it as specimen B, and particularly state when the observations refer to it. In addition, I had two roots of a mature plant collected by Professor Stahl.

Sir Joseph Hooker made some anatomical observations on *Cyrtosia Lindleyana* (Hook. f. & Thoms.), which grows in temperate woods at a height of 5000–7000 feet on the Himalayas and Khasia mountains. He says that the tissues abound in

Fig. 1.

Young plant of *Galeola javanica*.

a viscid fluid, and are formed of a loose cellular tissue full of oblong and quadrate cells containing raphides, and traversed by stout woody bundles. The latter are composed of spirally-marked tubes, long superimposed cells with dotted walls, very broad tracheæ, and thick-walled tubes with their walls perforated by pores surrounded by disks (bordered pits, P.G.) much resembling the woody tissue of Coniferæ.

He further mentions the multicellular hairs of the ovary, and says that along the back of each placenta is a dense mass of white conducting (?) tissue formed of delicate white transparent mucilage-tubes.

Thus Sir Joseph Hooker showed that the xylem elements of the

vascular bundles are well defined, that mucilage and raphides are abundant, and that in the placentæ there is a large development of mucilage-producing tissue.

The subterranean part of the plant consists of a large mass of succulent roots attached to a small irregular rhizome (fig. 1) The whole mass measures 5 inches in length, the longest root being 4 inches long.

Roots.

The roots are all succulent and unbranched, and they vary in length. Each root at its point of attachment is about a quarter of an inch in thickness; travelling towards its apex, it rapidly increases in thickness till its diameter is about half an inch; the root maintains this thickness till it ends bluntly at its apex.

Histology of the Root.

In their minute structure the roots vary considerably in their different parts.

Describing first the mature structure of the root:—

The first characteristic of the root is that it is not covered by any definite layer of cells. In some regions a piliferous layer is represented by a larger or smaller patch of relatively not thin-walled cells united without intercellular spaces. They contain dense coiled masses of hyphæ (mycorhizal), cytoplasm, and well-defined nuclei. A few of these cells grow out into short, broad, thick-walled cuticularized root-hairs. The root-hairs tend to lie flat on the surface of the root in place of protruding freely. Hyphæ occur in the root-hairs. But over the larger part of the root there is no trace of this piliferous layer, the superficial layer being irregular, and formed of cells with very thick, pitted, suberized walls (Pl. IV. fig. 4). These cells are elongated in the direction of the root-axis. Thus, the surface is uneven, and in many places there is clearly no regular layer of cells; even mucilage-sacs may reach the surface. But whatever layer of the cortex forms the superficial cells, the cells assume the same character as regards the thickness and suberization of their walls (Pl. IV. fig. 4), always excepting the primary piliferous layer. Mycorhizal hyphæ may be seen running through these cells from the outside to the cells lying within. Even when the piliferous layer persists, the subjacent layer has thick suberized walls; but there is no definite regular exodermis.

Protruding into the cavity of these thick-walled cells are frequently certain peculiar papillæ which are attached to the thick wall (Pl. IV. fig. 4). They are especially seen on the thick tangential walls, pointing radially into the cavity of the thick-walled cells or of the subjacent cells, but everywhere are only on thick walls. They look like processes of the cell-wall, do not swell in sulphuric acid, but in general answer the tests for cuticle. Their nature will be discussed later in the paper.

Within, there typically succeed three peculiar layers of the cortex. These are sharply marked off from the cells lying more deeply by their shape, size, and contents. As these peculiar cortical layers are met with in other saprophytic orchids, I propose to allude to them collectively under the name of *exocortex* (Pl. IV. fig. 4). The cells comprising the three layers of the exocortex have thin cellulose walls; they are flattened radially, elongated tangentially and in the direction of the root-axis. They contain living protoplasm, little or no starch, and many of them have mycelia in which the hyphæ are distinct from one another. With regard to the mycelia, many of the cells of the outer two layers have no hyphæ, the latter often passing directly radially inwards to the third (innermost) layer, the cells of which usually contain mycorhizal hyphæ with thick glistening walls. The hyphæ in the two outer layers have, as a rule, thin walls.

Occasionally a curious distribution of starch may be seen in the exocortex. In certain spots hyphæ can be seen penetrating the superficial cells and passing radially inwards through the exocortex, scarcely spreading at all tangentially till the third layer is reached. In these cells traversed by hyphæ no starch is visible. But in the cells which have no mycelia starch is found abundantly. These latter cells do not absorb from the exterior, as a thick-walled layer is invariably external to them, and no hyphæ penetrate the thick walls to permit inward passages of liquids. Thus these starch-containing cells merely receive food supplied by the cells containing hyphæ.

In parts of the root some of the cells immediately beneath the external layer have thick cuticularized walls, and they form patches of thick-walled tissue lying in the exocortical region. In such cells peg-like papillæ, identical with those described, are frequently found protruding from the walls. In favourable sections it may be seen that the pegs protrude into the cells only

from those walls which belong also to cells containing hyphæ, and these pegs are directed away from these latter cells. In fact, the pegs are much modified and thickened walls of arrested hyphæ. The following facts show that this interpretation is correct:—(1) Often an axial canal can be seen running up the centre of the peg and ending blindly; this canal is continuous with a pit traversing the cell-wall. (2) In all cases which observation can establish the occurrence of the pegs coincides with the distribution of mycorhizal hyphæ in the region of cells with thick modified walls. Thus, in a root-apex frequently mycorhizal hyphæ, inside and outside the root, can be seen only on one side of the root; the peculiar pegs occur only in connexion with the thick-walled superficial cells of the same side. In cells not lying on the surface the pegs occur only on walls of cells adjoining other cells which have mycorhizal hyphæ. This latter statement holds not only for cells in exocortical regions, but for certain cortical cells of root and rhizome lying much further inwards, and having thick lignified and pitted walls. (3) In these last-mentioned cells transition-stages to hyphæ may be seen. (4) Often the pegs are bluntly branched. (5) In aerial parts smaller but similar pegs occur in connexion with thick-walled epidermal cells; and in connexion with sclerenchyma-cells where wounds have permitted the ingress of hyphæ. (6) In the apex of the root the thick walls of the superficial cells turn yellow with caustic potash; but the pegs remain white. Thus, the pegs are the ends of hyphæ the growth of which has been arrested, whilst the wall has thickened. I suppose the arrested growth is occasioned by the rapid deposit by the cell of layers of cell-wall on to the hyphal wall. For I could not succeed in ever tracing the stratification of the pegs through the cell-wall. The stratification, on the other hand, appeared continuous with that of the cell-wall. At first it suggested itself that these pegs might belong to a fungus which was not symbiotic, but which would injure the roots. This view is negatived by the fact that deep in the cortex the mycorhizal hyphæ can be traced directly into the pegs. In addition, the pegs occurred in all three plants which were examined. Outside the root, the hyphæ originally continuous with the pegs die off; so the pegs cannot be regarded as anchoring organs or as functioning as haustoria (except possibly for a very short and evanescent period).

Amongst the exocortical cells run a few isolated longitudinal rows of raphide-mucilage cells.

The layers of cortex lying within the exocortex are sharply marked off from the latter without any intermediate stages. They are larger, and are not radially flattened; but in transverse section are isodiametral. At the base of the root there are about fourteen layers of cortical cells lying between the exocortex and the endodermis. Where the root has attained its maximum thickness, there are about double the number of these layers. There is, however, a differentiation in these cortical cells. The outer cells comprising two-thirds of this part of the cortex are large parenchymatous cells elongated in the direction of the axis, and with slight collenchymatous thickenings around the small intercellular spaces. They differ from the cells comprising the inner third in their contents, and sometimes fundamentally are distinguished by their form. But these two regions of the cortex are not so sharply marked off one from another as they are from the exocortex. The great distinction between the two is that the outer portion—the *mediocortex*—usually contains mycelial masses, whilst the inner part has no mycelia, and may be termed the *endocortex*. In the roots of this plant the *mediocortex* is further characterized by being extremely rich in starch, even where no mycelia are present; the endocortex, on the other hand, has much less starch, sometimes none.

In the mediocortex the mycorhiza consists of yellow glistening masses not distinguishable into separate hyphæ (Pl. IV. fig. 4). These masses are connected from cell to cell by their strands, which are modified hyphæ. Cytoplasm lines the walls and coats the mycelial masses, and is packed with countless minute starch-grains. A large nucleus is visible in each cell. The mycelia are seen to best advantage by staining with Grenacher's hæmatoxylin, washing with increasing strengths of alcohol, clearing with oil of cloves, and mounting in Canada balsam. The masses and their hyphal strands remain stained, whereas the cytoplasm is completely decolorized, though the nucleus is deeply coloured.

Interspersed amongst these cells are longitudinal rows of raphide-mucilage cells. With iodine the mucilage stains beautifully in tints varying from pink to crimson-violet, according to the strength of the solution employed. Each mature cell (Pl. IV. fig. 4) shows a group of raphides embedded in a deeply stained central

mass of mucilage. Around this is a vacuole across which stretch a few threads of mucilage connecting the central mass with a much larger peripheral sponge-work of mucilage*. The nucleus lies crushed flat against the wall.

The endocortex varies considerably in structure. Apart from the distinctions already mentioned, it differs from the mediocortex in that the raphide-mucilage cells are smaller in size and fewer in number. At the base of the root the whole of the endocortex is converted into cells having very thick lignified walls with numerous simple pits. These cells preserve their nuclei and protoplasmic contents, and may contain starch. This change even invades the mediocortex, so that one to two of its innermost layers have these thick lignified walls, but contain mycelial masses. Thus a complete section of such a root would display :— (1) Piliferous layer. (2) 3–4 layers of exocortex. (3) Nine layers comprising the mediocortex, of which the two innermost have thick lignified walls. (4) Five layers constituting the lignified endocortex. (5) Endodermis and central cylinder.

Tracing such a root towards the apex, the number of lignified layers diminishes, the outer ones first losing their thick walls, till there is only one layer immediately outside the endodermis which is lignified. This single layer is notably interrupted opposite the xylem-bundles by thin-walled cells, which obviously function as passage-cells and lie immediately outside the slightly protruding passage-cells of the endodermis (Pl. IV. fig. 5). This last layer loses its thick walls. The object of this large production of mechanical cells will be discussed later.

The *endodermis* is a single layer consisting of cells with thin suberized walls (fig. 5).

The *pericambium* (fig. 5) forms a single complete layer, and in some spots it is two cells thick. Each cell is brick-shaped and protoplasmic.

There are numerous (20–28) alternating bundles of xylem and phloëm.

The *xylem* is made up of tracheïdes and parenchyma (Pl. IV. fig. 5). The tracheïdes increase in calibre from without inwards, and have transverse-bordered pits, so that the thickening varies from pitted to scalariform and reticulate. Each xylem-bundle

* It must be recollected that the observations were made on material fixed with ordinary methylated spirits, so it is impossible to say how far this resembles the original structure.

is surrounded by a sheath of narrow parenchyma-cells longitudinally elongated. Often those in the inner side are lignified and stretch across from bundle to bundle within the phloëm; thus a complete lignified ring is formed. Frequently, too, the parenchyma-cells at the sides or even between the tracheïdes are lignified, but heavily pitted. The tracheïdes are really few in number, and in most parts of the root the lignified portion, seen in the stele to form a connected mass, is mainly made up of elongated, heavily pitted parenchyma-cells. These in transverse section are easily distinguished by their protoplasmic contents. As the terminal walls are oblique or transverse, they might equally well be termed fibres.

Phloëm is mainly constituted of elongated thin-walled parenchyma-cells. A few narrow sieve-tubes occur and have terminal sieve-plates. The sieve-tubes communicate by lateral pits with some of the more slender parenchyma-cells, which must functionally represent companion-cells. The sieve-tubes may be recognized by their thicker glistening walls. Thus in the phloëm there is, compared with a normal plant, an increase in the parenchyma and a dwindling of the sieve-tubes.

The *pith* is considerable in size, and typically consists of elongated parenchyma-cells with cellulose-walls and delicate collenchymatous thickenings round the distinct intercellular spaces. A few longitudinal rows of raphide-mucilage cells occur. But at the base of the root the pith is smaller, and all its cells possess thick lignified walls. Travelling towards the apex of the root, this lignification diminishes *pari passu* with the lessening of the number of lignified layers outside the endodermis. But it is the central cells of the pith which first lose their thick walls, and the peripheral layers which preserve them longest. The number of raphide-mucilage cells diminishes in the pith as the lignification increases.

Thus, at its point of attachment the root is more slender, but there is a large production of mechanical cells which are connected with similar cells in the rhizome. Examining the subterranean parts, one sees that some roots arise close together and exert considerable pressure on each other, so that there is a marked flattening on the side of the younger root. If there were no mechanical cells at the slenderest part of the root, the pressure of the contiguous parts would cause bending and ultimately rupture. Hence the advantages of a production of mechanical tissue at this point. I cannot say whether this production is

spontaneous or whether it be the result of a stimulus conveyed by contact (compare the production of mechanical cells in climbing organs).

Structure of the Apex of the Root.

A root-cap covers the tip. It is made up of comparatively few layers of cells, the outermost having thick cuticularized walls. In some roots mucilaginous degeneration of large numbers of the meristematic cells of the root-cap sets in. The mucilage shows the same spongy structure and staining properties exhibited in the raphide-mucilage cells. The meristematic cells naturally are devoid of starch, but those immediately around the masses of mucilage are packed with starch. Travelling out from the mucilaginous mass, the amount of starch in the cells gradually diminishes till it occurs only on those halves of the cells which are nearer the mucilage, and beyond this point no starch occurs. Thus the process of degeneration into mucilage commences by a pathological accumulation of starch on one side of the cell; gradually this abnormal production of starch takes place throughout the whole cell, till it becomes packed with starch. My material did not permit me to trace the stages between this stage and the first one of mucilaginous degeneration of the cells.

As might be anticipated in such massive succulent roots, it is impossible to see any sharp distinction into histogens. However, the very early differentiation of the exocortex is easily seen, as is the precocious development of the raphide-mucilage sacs. Recollecting that the piliferous layer of a monocotyledonous root is typically the external cortical layer, and that a multilamellar velamen is merely this layer divided by periclinal walls, it can be seen that the exocortex is genetically very similar to the velamen. Its origin, position, and contents would seem to indicate that the endocortex is, like the velamen, primarily a region of the cortex specially calculated to absorb and pass on absorbed liquids to the subjacent cells. And this hypothesis is further confirmed by the occurrence of a similar layer in rhizomes which perform the absorptive functions of roots.

The *roots of specimen B* are much smaller and more slender than those of the larger specimen. Woodcut 1 represents the plant in its natural size.

The distinction between the roots of the two plants merely consists in a difference in the number of cells. In addition, near

the base of the roots of B the starch is collected in the endocortex rather than in the mediocortex, which has but little in its outer layer. And corresponding to this increased amount of starch in the endocortex, the raphide-mucilage sacs are more abundant in the endocortex than in the mediocortex.

Origin of the Roots.

In *Galeola* the roots are unbranched; new roots arise at the flowering axes. I cannot certainly state how the root arises; but, from the single very young one which I saw, it seems pretty certain that the roots arise in the inflorescence-axis, not from the pericycle, but by differentiation in the immature cortex; the epidermis of the axis does not appear to aid in forming the root.

If this be correct, the mode of origin is strikingly like that in *Neottia*.

Summary of Results concerning the Root.

1. The *piliferous layer* produces but few short hairs. In most places it peels off. There is no definite regular exodermis, but everywhere, beneath the piliferous layer or exposed to the surface, the root-cortex is coated by cells with at least the external walls thick and suberized, even at the growing point. These cells are admirably calculated to prevent loss of water, but it appears that absorption of solutions can only take place at spots perforated by the mycorhizal hyphæ.

2. Beneath succeed about 3 layers (3–5) of thin-walled cells, constituting *exocortex* with active mycelia in most of the cells. Starch is present only in cells devoid of mycelia. The hyphæ can be traced to the outside of the root.

3. So far as can be judged by the structure of the superficial layer and exocortex, the older parts of the roots are just as capable of absorbing solutions as are the young parts.

4. Within, succeed layers of cortex capable of being occupied by mycelial masses (*mediocortex*), and rich in starch and in raphide-mucilage sacs.

5. These layers are succeeded by the *endocortex*, which is incapable of entertaining the mycelia and is poorer in starch.

6. The *endodermis* has thin suberized walls. When a single layer of mechanical cells lies outside it, this layer has passage-cells outside the passage-cells of the endodermis, *i. e.* opposite the bundles of xylem.

7. There is a *pericambium*.

8. The *xylem* is well differentiated, but has no vessels.

9. The *phloëm* is marked by a large increase in the parenchymatous cells and a dwindling of the sieve-tubes.

10. A *pith* is present and stores up starch and has a few raphide-mucilage sacs.

11. In the cortex there is sometimes a centrifugal production of mechanical cells, whilst in the pith there is simultaneously a centripetal manufacture of mechanical cells.

12. The distribution of the raphide-mucilage sacs appears to correspond with that of starch. Usually they are present in largest quantities in the mediocortex, and to a less extent in the endocortex. But where (specimen B) the distribution of starch is reversed, so is that of the raphide-mucilage sacs. In the root-cap mucilaginous degeneration is heralded by an abnormal accumulation of starch. On the other hand, when cells become lignified, the mucilage-raphide sacs lessen in number (pith and endocortex).

Histology of the Rhizome.

Sections through an old part of the rhizome reveal the following structure:—

1. A regular *epidermis* with thick cuticularized walls. Here and there cells grow out into "root-hairs."

2. The *cortex* is differentiated more or less in the same style as the root. Externally are a few layers of radially flattened cells, which towards the interior gradually merge into cells polygonal in transverse section; and these in turn are succeeded by cells with thick lignified walls, which are continuous with similar cells in the root. Close to the attachments of a root, the outermost cortical cells are sharply marked off from the cells lying within, and they contain less starch and often distinct mycorhizal hyphæ: that is, there is an exocortex. In these regions they are succeeded internally by a mediocortex with mycelial masses, which are continued from the root. Starch is present most abundantly in the cortex near the region of attachment of the roots, and is conspicuously less in quantity in the immediate neighbourhood of the lateral buds. Large and numerous strings of raphide-mucilage cells occur in the cortex.

There is *no* distinct *endodermis*. The *vascular bundles* are large and numerous. They are typically collateral. Compared with the root and even the inflorescence-axis, there is a large

increase in the elements of the xylem. Each bundle has a large group of wide tracheïdes, and protoxylem in the form of spiral vessels. The phloëm, too, is well developed, and consists of sieve-tubes, companion-cells, and parenchyma. The vascular bundles are embedded in lignified parenchyma. Towards the attachment of the buds and of the inflorescence-axis, the lignification of the ground-tissue diminishes.

Structure of the Flowering Axis.

In my specimen there was only one flowering axis, five inches in length, and bearing three large fruits. From its base adventitious roots arise. The scale-leaves are attached close together at the base, but higher up they dwindle in size and are separated by longer internodes.

Taking sections about halfway up this axis, the structure revealed is as follows:—

1. *Epidermis* composed of narrow cells much elongated longitudinally, with thick heavily cuticularized outer walls. The cuticularization is continued into the lateral walls. No stomata occur. Even at this height, pegs similar to those formed by mycorhizal hyphæ in the root and rhizome are found.

2. *Cortex* made up of cells elongated longitudinally. Externally are a number of layers of collenchymatous cells with small intercellular spaces. Travelling inwards from the epidermis, the collenchymatous thickenings diminish and the intercellular spaces increase in size, but are small at their maximum. Then succeeds a *general sheath* composed of several layers of sclerenchymatous fibres, with small lumina and with very small intercellular spaces. No thin-walled cells interrupt this sheath.

3. Embedded in this sheath and lying in the stelar parenchyma are numerous vascular bundles.

There is only a small central mass of parenchyma free from bundles. No starch occurs. Only a few isolated mucilage-cells are present, so that transverse sections may be taken in which no mucilage-cells are visible.

Structure of the Vascular Bundles (Pl. IV. fig. 3).—Each bundle is collateral and has a sheath of sclerenchymatous fibres round it.

The *phloëm* consists of sieve-tubes with terminal and oblique sieve-areas, long companion-cells with elongated narrow nuclei,

and longitudinally extended parenchymatous cells. The protophloëm is crushed and stains bright blue with aniline-blue.

The *xylem* is mainly constituted of tracheïdes forming an uninterrupted mass. They have transverse pits. The tracheïdes are separated from the phloëm by long parenchymatous cells. Here and there between the tracheïdes and the sheath are wood-parenchyma cells. In the larger central bundles the protoxylem is visible in the form of curious narrow vessels, having very loose thickenings (spiral, annular, reticulate), which may be described as tangled. A small intercellular space denotes that there has been an attempt to form the typical schizo-lysigenous intercellular space. In some of these larger bundles, radially within this protoxylem, there is a collection of elongated parenchymatous cells with narrow lumina which strongly resemble the phloëm. I never succeeded in discovering sieve-tubes amongst these cells, though they possibly occur. Such bundles, then, are probably bicollateral. The outer vascular bundles are smaller, and near the general sheath some of them consist solely of phloëm.

In the uninjured axis I could detect the entrance of fungal hyphæ in a few isolated spots, and the attacked cells acquired very thick suberized walls which soon prevented the hyphæ penetrating more deeply. But part of the axis had been mechanically injured some distance up. The wound was closed over by a false epidermis. At certain points hyphæ had penetrated and descended even as deep as the sheaths of the vascular bundles. The walls of the cells attacked had become decolorized and the contents disorganized and coloured brown. Of course it was impossible to decide whether or not these hyphæ belonged to the mycorhizal fungus. The injury undoubtedly was not initiated by a fungus. This shows that the thick cuticularized epidermal walls normally can act as a shield to ward off fungal attacks.

This account of the structure of the middle part of the inflorescence-axis holds for the rest of the axis, except for some differences with reference to the mechanical cells, raphide-mucilage cells, and the distribution of starch.

At the basis of the axis, *mechanical cells* with wide lumina form two or three layers round the general sclerenchyma-sheath; these disappear higher up the axis. But an interesting change in structure again takes place at the region of attachment of each fruit. In relation to the diameter of the axis, the fruits are disproportionately large and heavy because of the large amount of water in them. We might anticipate that additional pro-

visions would be made to ensure the firm attachment of the fruits. Each fruit is attached by a short almost imperceptible pedicel, and there is a distinct constriction marking the point of junction of the fruit and the pedicel. In the pedicel the whole of the parenchymatous ground-tissue, excepting 2–3 external cortical layers, is converted into mechanical tissue composed of short square cells with very thick, pitted, and lignified walls. At the constriction, the whole of the ground-tissue is thus modified. This mass of sclerenchyma penetrates the base of the fruit in the form of a short cone. Further, it is continued down the main axis, but only on the side on which the fruit is attached.

The *distribution of starch and raphide-mucilage cells* varies in the different parts. The mucilage-cells are especially collected in the cortex. At the base of the axis, where roots are attached and the scales set closely together, it is easy to take a transverse section, so that a root is coming off from one side and a leaf from the other. On the root-side the cortex is packed with starch-grains. On the leaf-side not a grain of starch occurs in the cortex, though some grains are present in the nerve-parenchyma of the vascular bundles running out to the leaves. In the more central ground-tissue amongst the vascular bundles the starch increases towards the root and dwindles towards the leaf. (Starch is of course richly present in the cortex of the roots.) Similarly that half of the axis connected with the root has many large raphide-mucilage cells; on the side towards the leaf there are only a few small raphide-mucilage sacs.

Half an inch above the region where the scales are closely set, starch occurs in the inner cortical cells around the general sheath and in the stelar ground-parenchyma. Raphide-mucilage cells occur and invade even the general sclerenchyma-sheath.

An inch higher starch occurs solely in a few of the stelar ground-parenchyma cells, and there are only a few mucilage-cells (three in a transverse section) without raphides.

Then succeeds a region in which there is no starch, and mucilage-cells are very scarce and isolated (often none visible in a transverse section). At this region the leaves have series of raphide-mucilage cells. Higher up, near the attachment of the fruits, the mucilage-sacs increase in number, though there is no starch. But in the pedicel the sacs are absent.

In specimen B, above the region of attachment of the roots, only a small amount of starch occurred, and that was confined

to isolated parenchyma-cells just outside the general sclerenchyma-sheath. A few raphide-mucilage sacs occurred all the way up the flowering axis.

Hitherto no reference has been made to some structures which occur on the upper parts of the flowering axis, namely certain *hairs*. In the fruiting specimen they are visible merely as numerous crushed hairs on the fruit-bearing part of the axis. They are entirely absent from the subterranean part of the plant, rhizome, or buds. In specimen B their structure can be made out. They are glandular hairs coating the upper parts of the axis, the ovary, and the perianth-leaves. They secrete mucilage. Each hair is composed of a single row of swollen spherical cells. Each cell has a large central nucleus slung by thick bridles of protoplasm to the general peripheral lining of protoplasm. On these bridles minute clear bubbles are visible (mucilage ?).

Histology of the Scales.

All the scales are more or less closely adpressed to the axis which bears them. Thus the lower surface is exposed and the upper surface lies against the axis, or axillary bud.

As there are considerable differences between the structure of a bract and of a subterranean leaf, the two will be described separately.

Structure of a Bract (Pl. IV. fig. 4).—At the base of the bract the inner (upper) epidermis has relatively thin walls not much cuticularized. Some of the cells grow out into secreting hairs.

The mesophyll is composed of 6–7 layers of parenchymatous cells with small collenchymatous thickenings and feebly developed intercellular spaces. The layer immediately within the inner epidermis is flattened. All the cells composing the mesophyll have well-marked nuclei, and in the cytoplasm excessively fine deeper-staining filaments are visible.

The outer (lower) epidermis has walls which are much thicker and more heavily cuticularized than the inner epidermis. In these, fungal pegs are frequently visible. Some of these cells contain hyphæ and have brown walls; and in some places the hyphæ have penetrated to a depth of three layers in the mesophyll, the attacked cells having discoloured walls and disorganized contents.

Towards the margins the scales become thinner, having fewer layers of mesophyll; and the inner epidermis acquires more thickly cuticularized walls. Most of the cells in these thinner

regions of the scales have brown walls and contain hyphæ. Raphide-mucilage sacs occur in the mesophyll of the scale.

The vascular bundles, at the base, are nearer the upper (inner) face of the leaf, and are separated from the inner epidermis by one or two layers of mesophyll. The bundle is invested with a sheath of sclerenchymatous fibres, which is more strongly developed on the side remote from the inner epidermis. The bundle contains xylem and phloëm, but there is relatively little phloëm. Within the sheath on the upper (inner) side are some parenchymatous cells longitudinally elongated which contain starch. Within these lie the xylem, commencing with narrow spiral vessels and followed by tracheïdes. Parenchyma-cells separate the xylem from the phloëm with sieve-tubes. Separating the phloëm from the sheath again is a more or less complete layer of parenchyma-cells which contain starch. (Starch occurs in no other cells of the scale.) In small vascular bundles the phloëm is represented by a mass of very narrow elongated parenchyma-cells.

Following the scale up towards its apex, certain remarkable changes in structure are visible. On the side towards the inner epidermis gaps arise in the sclerenchyma-sheath, and single subepidermal cells are changed into broad storage-tracheïdes which are connected with the xylem of the bundle. Ascending higher, the bundle-sheath disappears and there is developed within the inner epidermis a complete network of these tracheïdes, which are connected with the xylem of the bundles. In transverse section this extrafascicular system of tracheïdes seems to extend like a pair of wings from each bundle, and meet the wings from the adjacent bundles. These tracheïdes are elongated longitudinally and not directed at right angles to the epidermis. There are considerable gaps in the network of tracheïdes which are occupied by ordinary mesophyll-cells. The inner epidermis immediately outside the hypodermal network of tracheïdes has thin feebly cuticularized walls. Nearer the apex and margins of the scale this hypodermal system disappears and the inner epidermis acquires thick walls with a conspicuous cuticle.

The hyphæ penetrate the outer epidermis and the regions near the tip and margins, more abundantly than they do the thin-walled part of the inner epidermis. This may be simply because these parts of the leaves are more exposed. In one bract hyphæ had penetrated the inner epidermis and traversed a series of hypodermal tracheïdes, causing disorganization of the cells attacked.

Thus, even if the fungus were harmless or even useful at first, it eventually kills the cells of the scales in the aerial part of the axis.

Histology of a Subterranean Scale (Pl. IV. fig. 5).—The main scheme of structure is the same as that of a bract, but the subterranean scale is much larger and the hypodermal system of storage-tracheïdes is disproportionately greater. These tracheïdes form, even immediately at the base of the scale, a large and close hypodermal sponge-work several layers thick. There are very few ordinary mesophyll-cells between the tracheïdes, which occupy a space as much as a third of the whole thickness of the leaf. In addition the tracheïdes display a strong tendency to arrange themselves with their long axes at right angles to the surface of the leaf, whereas in the bract the long axes are parallel to the surface.

No hairs occur on these subterranean leaves.

Function of the Leaves and Transpiration.

In the absence of physiological observations, it is only possible to offer suggestions concerning the function of the leaves, the processes of transpiration and of absorption of solutions.

The existence of well-developed xylem, mainly consisting of conducting tracheïdes, must be regarded as evidence for the existence of a considerable current of water from the absorbing parts to the growing portions of the plant. From analogy with other plants we must assume that the parts which absorb are those which contain mycorhizal hyphæ. In spite of their thick walls, the roots and possibly portions of the rhizome absorb, the solution passing in through pits in the walls and probably especially by the agency of the mycorhizal hyphæ.

The question now arises as to how the plant gets rid of the excess of water absorbed. During a considerable portion of its existence, the plant consists merely of its subterranean portion (judging from the analogy of all investigated European saprophytes). Hence during that period the water cannot be disposed of by any aerial part of the plant. The solitary spots in the subterranean plant which are covered by thin and feebly cuticularized walls are the parts of the scale-leaves where a large hypodermal system of tracheïdes is developed. Hence I conclude that these scale-leaves are the organs of transpiration. It should be noted that these subterranean parts grow in positions liable to rapid changes in the moisture. In the first place the

plant is very near the surface of the soil; secondly, the soil is light; and thirdly, the plant grows high up mountains. All these conditions render the substratum liable to rapidly lose water, and expose the plant to the risk of transpiring excessively. So I assume that the following process takes place:—When the soil is damp the roots absorb solutions, a transpiration-current sets in towards the growing parts and leaves in general, the water is carried by the small bundles of xylem into the scales and gradually deposited in the storage-tracheïdes. At this time transpiration is out of the question. Whether the hypodermal tracheïdes finally fill and permit liquid water to be forced out through the thin-walled epidermis it is impossible to say. When the soil dries, transpiration becomes possible. This does not take place from the regions covered by a layer with thick walls, but from those parts of the scales at which the epidermis has thin walls. And this process is aided by the rapid absorption of the exhaled vapour by the hygroscopic soil and its speedy conduction to regions where absorption is taking place.

Considering the plant when it has an inflorescence-axis. There is a considerable current of water as evidenced by the xylem. The axis is coated everywhere with an epidermis with thickly cuticularized walls. The spots from which water can be excreted are the scale-leaves, the mucilage-hairs, and the parts of the flower. As these aerial portions are more liable to lose water than the subterranean portions, and as the floral parts and mucilage-hairs cause the plant to lose water, there is not the same pressing necessity for a large transpiring surface, nor for a large development of storage-tracheïdes. So we find that the scales dwindle in size and number and the system of hypodermal tracheïdes gradually diminishes as we ascend the inflorescence-axis. When the fruits form, the same holds good, for the fruits store up a large amount of water.

Thus the subterranean parts are constructed so as to avoid being dried up and yet to permit of a regulated loss of water. In the inflorescence-axis the arrangements to prevent loss of water are much more marked than the mechanisms to permit transpiration. The plant is a unique xerophyte.

It might be suggested that the subterranean scales are organs of absorption. Possibly they may be so periodically. But the following reasons may be urged against a view that they are essentially organs of absorption:—(i.) That region of them

through which absorption might take place is not freely exposed. (ii.) Mycorhizal hyphæ do not penetrate at the spots where the epidermis has thin walls, although the spaces between the leaves and axis are filled with hyphæ and humus. (iii.) The structure and circumscribed area of the spots of the epidermis where the walls are thin militate against this possible view. (iv.) In the rhizome the accumulation of starch and raphide-mucilage cells is near the attachments of the roots and distant from the scales. (v.) The amount of starch in the scales is small. (vi.) The aerial scales are constructed on the same scheme as the subterranean scales. (vii.) Other saprophytic orchids possess stomata in their subterranean parts, or other means of getting rid of excess of water (storage). None of these considerations disprove the views that the scales can absorb. But that they can lose water seems certain when we ask the question, "If the scales do not get rid of the excess of water, how is that surplus disposed of?"

Histology of the Fruits. (Pl. IV. fig. 6)

On my specimen there were three succulent fruits shaped like small tapering bananas. The ovary has one loculus, and three branched parietal placentæ bore numerous young seeds.

Sections reveal the following structure:—Externally is an *epidermis* composed of small cells with thick, cuticularized outer walls. Traces of a few *hairs* are visible. Within lie about eight layers of parenchymatous cells. These cells tend to be elongated tangentially (in transverse section) and gradually increase in size towards the interior. They are succeeded by about twice the number of large parenchymatous cells, which are rich in starch excepting immediately in the neighbourhood of the interplacental vascular bundles. Scattered in the parenchymatous *ground-tissue* are longitudinal rows of *mucilage-cells* which appear to have no raphides. In transverse section one sees that there is a single ring of parenchymatous cells elongated radially round each mucilage-cell. Hence it is possible to recognize the latter even when the mucilage has dropped out.

There are *six* main *vascular bundles*, three opposite the three placentæ and three equidistant between these. The ground-tissue cells in the neighbourhood of the bundles change their shapes and gradually become elongated at right angles to the direction of the bundles from which they radiate, forming marked patterns. In the bundles there is a great diminution in the xylem. From

the anti-placental bundles, very small bundles run longitudinally in the placentæ. These small bundles contain no liquified constituents and appear to be solely made up of narrow elongated parenchyma (and sieve-tubes ?).

The *placentæ* are large and branched. Their proximal parts consist mainly of parenchyma and the small bundles. But the larger part of the placentæ is constituted of enormous mucilage-cells (fig. 9), which are ranged in masses rather than in longitudinal rows. Each mucilage-cell contains a large sponge-work of mucilage, a central vacuole in which lies a small dense mass of mucilage*. No raphides occur. A small nucleus lies pressed against the wall of the cell. Between the mucilage-cells are mostly thin-walled flattened cells containing no starch but having granular protoplasm and a large nucleus. In the same part of the placenta, here and there, are strings of smaller cells elongated in a transverse plane and containing starch. They communicate by irregular lines of starch-containing cells with the cells of the proximal portion of the placenta, which also contain starch. In fact they might be termed conducting parenchyma-cells.

At the base of the ovary, where few or no ovules are attached, the small placenta, in transverse section, consists of few (about two) mucilage-cells enveloped by a mass of small parenchyma choked with starch-grains.

The anatropous *seeds* appear to be mature or nearly so. Several layers of cuticularized cells form a testa. A simple undifferentiated embryo without a suspensor fills nearly the whole of the cavity of the seed. A few cells with thin cellulose-walls, scarce any protoplasm, but having sharply-defined nuclei, occupy a small region remote from the micropyle. They appear to represent the remains of the endosperm.

One fruit was considerably decayed in several spots, and particularly near the base, and was half eaten away. The ovules were intact. The exposed cells of the ovary-wall had brown membranes and protoplasmic contents, and on the walls of many of

* Again I must call attention to the fact that the material was fixed with methylated spirits. In some of the mucilage-cells in different parts of the plant the mucilage appeared to be in the form of isolated bubbles lying in a protoplasmic network. But in the majority of cells the network stained red, like the central mass of mucilage. This may be a stage subsequent to the bubble-like condition.

these cells were dark-coloured resistant bubble-like structures of unknown nature. These exposed cells contained starch (even the outer cortical cells); on the other hand, the cells in their immediate vicinity were devoid of starch. Thus the process of decay had caused a flow of carbohydrates to the infected spots, so that the inner cortical cells, which normally have starch, had been locally drained of their starch. Fungal hyphæ were found amongst many of the exposed cells, and there appeared to be traces of mucilaginous degeneration. I am unable to say how far this decay was a natural process, or how far caused by hyphæ.

In specimen B, with young unopened flowers, the ovary has many hairs on the surface, the cortical mucilage-cells contain raphides, and starch occurs only in a single layer of parenchyma round the vascular bundles. Starch occurs nowhere else in the flower except under the papillæ of the stigma.

Final Remarks on Metabolism in Galeola.

Considering the mode of life of *Galeola*, which passes part of its existence as a subterranean plant, and remembering that the thick fleshy roots form by far the greater portion of the subterranean mass, it is natural to assume that in the roots not only does the process of absorption take place but also the processes of anabolism. And this assumption is confirmed by observation of the distribution of starch and raphide-mucilage cells throughout the plant; for these are the solitary substances in this plant by which we can gauge metabolism. Starch and raphide-mucilage cells are abundant in the root, and in their distribution in the whole of the subterranean parts of the plants they correspond with each other. In the inflorescence-axis the parallel dwindling of both tends to show that the axis is merely a conducting and supporting structure. The manufacture of the large fruits is necessarily associated with a large production of protoplasm, and here again there is a reappearance of starch and mucilage (not raphides) in corresponding quantities. Possibly the raphides have been replaced by some other organic salt of calcium.

One noticeable anatomical feature in *Galeola* is the exceedingly feeble development of intercellular spaces. The rate of gaseous interchange will be thus considerably diminished. And,

as Mangin has shown, the total absence of stomata will further depress the process of respiration. One cannot avoid the suggestion that the production of mucilage may have something to do with this difficulty of getting rid of carbonic acid, which is necessarily abundant even inside the plant in the substratum. Where raphides occur, undoubtedly a deleterious excretory product is deposited and held in the mucilage-containing cell till the concentration is sufficient to permit of the formation of crystals, and from this one might conclude that the object of the mucilage was to absorb the liquid excretion. It has been ascertained that the fraction $\frac{CO_2}{O}$ in *Neottia* and *Monotropa* is always less than 1, and may be as low as ·6, which suggests that some excretion is retained in the plant in place of being evolved as carbonic acid*. Alkaloids have been shown to occur markedly in raphide-mucilage cells. But whatever may be the significance of the mucilage-cells, they are not water reservoirs upon which the plant can draw in case of need. Volkens completely disposed of this idea by observing that the mucilage-cells in desert plants retained all their water even when all the rest of the cells had become completely dried up.

Aphyllorchis pallida, *Blume*.

Blume first described this saprophytic orchid, and in his 'Orchides de l'Archipel Ind. et du Japon' an admirable illustration of the plant is given (p. 52, plate 13. fig. 1). From this latter work the following description of the vegetative characters of the plant is taken :—

"*Radix* fibris compluribus vermicularibus carnosis albidis villosiusculis horizontaliter extensis composita.

"*Scapus* solitarius, pedalis, rectus, teres, pallidus, obsolete purpurascenti-striolatus, inferne glaber, vaginulis alternis remotis tubulosis membranaceis, ore oblique truncatis arcte cinctus, superne simpliciter racemosus et nonnihil fusco-leprosus . . ."

Blume does not mention the occurrence of chlorophyll in any

* Aquatic plants have difficulty in obtaining gases essential. And it seems possible that the mucilaginous envelope often found on them is for the purpose of absorbing or entangling gases, especially carbonic acid. But in this case the carbonic acid would be ultimately handed over to the plants under the influence of light.

part of the plant. Yet in his figure the ovary and the base of each bract is painted green.

As the habitat of the plant Blume mentions the forests of high mountains in Java.

The several specimens which I investigated were in flower. And I may supplement Blume's description by a few remarks on the external morphology of the plant.

The subterranean part of the plant consists of a small cylindrical rhizome with minute scale-leaves. From this radiate the long simple unbranched* roots which extend horizontally close under the surface of the soil.

Above the attachment of the roots, at the base of the scape, the scale-leaves are larger and sheathing.

The form of the saprophyte does not differ so much from that of a green terrestrial orchid as does *Galeola*. There is no great disproportion between the size and form of the subterranean and aerial parts of the plant. In fact, judging from the small size of the rhizome, the fair size of the sheathing-scales, one might not surmise, from alcohol specimens, that the plant contained little or no chlorophyll. Corresponding to this lack of any striking morphological peculiarities, the plant displays histological structure which deviates but slightly from that of green plants.

Histology of the Root.

A mature part of the root displays the following structure:—

A *piliferous layer* is represented by a single layer, which is preserved in patches. Some cells are flattened, and others are prolonged into root-hairs. The latter have thick suberized walls which are pierced by mycorhizal hyphæ. The hyphæ can be traced *from the hairs* into the deeper tissues of the root.

There is a definite *exodermis* with small protoplasmic passage-cells which are traversed by mycorhizal hyphæ.

There succeeds a distinct *exocortex* composed of two or three layers of radially flattened cells. Raphide-mucilage cells form longitudinal rows in this layer, but do not occur elsewhere in the root. The innermost layer often has elongated mycelial masses. In the growing point the exocortex is marked off from the mediocortex in that the mycelial masses form very much

* At the base of one root I found the rudiment of a lateral root. It was forming in the pericycle and had a distinct digestive sac.

earlier in the latter, in the exocortex the mycorhizal hyphæ remain distinct for a lengthy period.

Within the exocortex there lie about eight layers of parenchymatous cells which are isodiametral in transverse section. Of these five to six outer layers form the *mediocortex*, and contain glistening yellow mycelial masses. The remaining two or three layers have no mycelia, and form an *endocortex*. The cells composing the endocortex contain starch, which is found nowhere else in the root.

There is a well-marked *endodermis*. Its cells are longitudinally elongated. Outside the phloëm the walls (Pl. V. fig. 1) are more thickened. Some of the cells opposite the xylem are passage-cells with large nuclei and very thin suberized walls (fig. 1).

The *pericycle* is composed of a single layer of brick-shaped cells. Some of these cells have thin cellulose walls and rich protoplasmic contents. But typically the cells of the pericycle, which are on the radii between the bundles of xylem and phloëm, have lignified, thick, pitted walls.

The root is pentarch, the whole of the tissue within the pericycle is lignified excepting the bundles of phloëm.

Outside each bundle of xylem lie, in transverse section, about three pericycle-cells with thin unmodified walls. As the ground-tissue cells radiating out from the xylem towards the pericycle on each side are lignified, each bundle, in transverse section, looks as if it were forked outwards. At certain spots these lignified forks are interrupted by cells with thinner, but still lignified walls, so that they permit of communication between the phloëm and the pericyle which is outside the xylem.

The conducting elements of the *xylem* are made up of tracheïdes with transverse pits, and towards the interior there are in addition fibro-tracheïdes with fewer pits, which are, however, bordered.

Outside each bundle of *phloëm* there lie, in transverse section, about three pericycle cells, of which the two lateral, or all three, have lignified walls. The phloëm consists of a mass of delicate tissue with thin cellulose-walls: sieve-tubes with oblique terminal plates, companion cells with strap-like nuclei, and elongated parenchymatous cells with wider lumina and oval nuclei.

The whole of the *conjunctive tissue* and the *pith* is converted into longitudinally elongated cells with thick, pitted, lignified walls.

Within the whole root the intercellular spaces are small.

Apex of the Root.

In longitudinal section the growing point of the root appears very like that of *Zea Mays*, though I could not establish the differentiation of the three histogens. The exocortex is very early differentiated. Mycelial masses occur only in the mediocortex; and starch-grains solely in the endocortex, extending about as near the actual root-tip as do the mycelial masses.

Origin of the Roots.

I saw one root developing at the base of an old root, in the pericycle. The roots then, sometimes at any rate, are endogenous in origin. I did not see the mode of development in typical cases, *i. e.* from the rhizome.

Histology of the Inflorescence—Axis or Scape.

Traced upwards, the scape tapers till it becomes thin and whip-like. A description will be given first of the structure of the scape at its full thickness, four inches above the attachment of roots, and considerably below the flower-bearing region.

1. The *epidermis* consists of narrow longitudinally-elongated cells, with a cuticle on the outer walls, which are only moderately thick. A few shrivelled hairs remain. Here and there *stomata* are visible often with starch in their guard-cells.

2. The *cortex* commences with two layers of parenchymatous cells with thin unmodified walls and small intercellular spaces. Some of the hypodermal cells form isolated raphide-mucilage sacs.

3. These layers are succeeded by the *general sclerenchymatous sheath* of 3–4 layers of fibres. In iodized chloride of zinc it is easy to establish the fact that the small pits of these fibres are lined with cellulose, and the pits are further connected with one another by thin vertical or horizontal threads of cellulose traversing the inner surface of the wall. Thus in a surface view of a fibre the walls appear to have a peculiar network of cellulose with regular square meshes.

4. The *vascular bundles* lie scattered in the parenchymatous ground-tissue of the stele, and there is a distinct central region (pith) devoid of bundles.

Histology of the Vascular Bundles (Pl. V. fig. 2).—Each bundle is surrounded by a more or less imperfect sheath of sclerenchymatous fibres. The lignification and thickening of the

cells forming this sheath are more marked on the radially external part of the bundle.

The *phloëm* consists of sieve-tubes, companion cells, and elongated parenchymatous cells similar to those occurring in the root. But the last-named have wider lumina and very large oval nuclei.

The *xylem* is separated from the phloëm by a transverse band (in transverse section) of longitudinally elongated parenchymatous cells with peculiar square nuclei. Within succeeds a single, or double, tangentially extended line of tracheæ with transverse pits. The protoxylem is clearly represented by a radial series ~~(fig. 11)~~ of spiral and annular vessels lying in a mass of parenchyma with thin unmodified walls.

Histology of the Rhizome

(at or below the attachment of the highest roots).

Compared with the scape, there is a large increase in the size of the cortex and a dwindling of the stele. The cortex, outside the general sheath, is constituted of nine layers of parenchyma which is rich in starch. Further, the ground-tissue within the stele is changed into parenchymatous cells with thick lignified and pitted walls. These are easily distinguished from the sheath-fibres by their wider lumina and lack of narrow pointed ends.

In one rhizome I found a young bud had been adventitiously produced from a terminal scar where the rhizome was undergoing decay. Similar buds are produced from isolated broken fragments of the rhizome of *Lathræa squamaria*.

Histology of the Upper Parts of the Scape.

The diminution in thickness in the higher regions of the scape is due to the reduction of the size of the stele, within which there are fewer vascular bundles. The bundles are smaller, and the reduction of the xylem is most marked. The cells of the general sheath and of the bundle-sheaths have thinner walls than lower down. Hairs and stomata occur. Such is the appearance of the upper part of an old scape bearing fruits and mature flowers. But when the scape terminates in a bud containing rudiments of flowers, the appearances are different. The young parts of the scape and the inner faces of the young scales are coated with *glandular hairs pouring out mucilage*. Thus the

spaces between the sheathing scale-leaves and the axis are filled with mucilage. The *hairs* are directed upwards and pressed against the surface. Each hair consists of a row of cells. In slightly older parts of the bud the hairs consist of fewer cells, and often the terminal cells may be seen to have burst. This suggests that mucilage is produced successively in the cells of the hair, the process commencing at the distal terminal cell, which is the first to be thrown off, and gradually travelling down to the other cells. One peculiarity in these hairs on the scales is that the lateral and lower walls of the basal cell are thick and cuticularized; but peculiar slit-like pits in the lateral walls place the cell in communication with the adjoining epidermal cells, though not in communication with the hypodermal cells.

The *distribution of starch in the scape* is interesting. A short distance below the actual apex in the bud there is starch in the ground-tissue, but not in the epidermis. The hypoderma is poor in starch, probably because it is being drained by the hairs for the purpose of manufacturing mucilage. The cells composing the immature general sheath are richest in starch.

Lower down there is no starch, save in the guard-cells of the stomata, till we approach the rhizome, where starch reappears in the cortex.

The hairs are transitory, but, in contrast to those of *Galeola*, they arise on all parts of the shoot-axis, and are not confined to the upper portion of the inflorescence-axis.

Histology of the Scales.

(I.) *Scale well below the floral region of the scape.*—The scale is constituted of about seven layers of cells:—1. The outer (lower) *epidermis* has cuticularized outer walls which are not thick. There are a few remnants of *hairs*, and a good number of *stomata*, which are much more numerous than on the corresponding part of the axis. The form of the stomata and the guard-cells varies greatly (Pl. V. figs. 3 *a*, *b*, *c*, *d*), so that some of these stomata are certainly amongst the most unique known. The variability in form of the stomata suggests that we may be dealing with structures which are undergoing functional atrophy. The stomata are raised on slight eminences and the guard-cells protrude. Beneath each stoma there is an intercellular space of relatively large size. The guard-cells have large chromatophores (plastids), which often are packed with minute starch-grains. 2. The *meso-*

phyll consists of about five layers of cells with delicate walls and small intercellular spaces. Many isolated *raphide-mucilage cells* occur in the layer beneath the outer epidermis. 3. The *vascular bundles* are closely approximated to the upper (inner) epidermis, being separated from it by, at the most, one layer of cells. They are small and simple. In the larger bundles, in transverse section, towards the lower (outer) epidermis there is an arc of lignified sheath-cells. The *xylem* is represented by a few narrow spiral vessels or tracheïdes. The *phloëm* is excessively feebly developed. 4. The inner (upper) *epidermis* consists of flat cells with thin walls. Stomata are wanting, or occur sparsely towards the free margins. On the other hand, the remnants of *hairs* are more numerous than on the outer face of the scale.

The *bracts* are histologically similar.

The *subterranean scale-leaves* are like the aerial leaves, and their stomata are widely open and numerous. Remains of glandular hairs are found in the inner face of the scales.

Distribution of Starch in Young Scales of the Scape.

In the smallest rudiments of the scales forming a bud there is no starch. In slightly older, developing, scales starch occurs throughout the mesophyll and epidermis (not in the hairs), but it is more abundant in the upper (inner) half of the leaf: that is, on the half towards the glandular hairs. In still older scales this difference is more marked; the starch has deserted the lower (outer) half of the leaf, and none is found in the outer epidermis save in the guard-cells. On the other hand, there is a large quantity of starch in the inner epidermis. In yet older scales most of the starch is confined to the upper (inner) epidermis; there is little or none elsewhere excepting in the guard-cells of the stomata. Finally, in mature leaves, in which the secretion from the hairs on the inner face has stopped, the starch has vanished from the inner epidermis. Thus it appears that in the scales the distribution of starch has relation to the mucilage-secreting hairs. There are very few hairs on the outer surface, but many on the inner face. There is constantly, then, a flow of carbohydrate material to the inner face. It will be noted that this assumption that the starch is consumed to manufacture mucilage is confirmed by the peculiar mode of disappearance of the starch. Histologically I showed that conduction of material into the hairs must take place from the adjoining epidermal cells,

not from the hypodermal cells. Corresponding to this is the fact that the starch disappears latest in the inner epidermis.

Histology of the Fertilized Ovary.

The ovary is unilocular, with three parietal placentæ, which bear numerous ovules. The wall of the ovary consists of the external and internal epidermis, and parenchyma forming the ground tissue in which lie six vascular bundles, three anteplacental and three interplacental. Opposite each vascular bundle the wall of the ovary is ridged, but the interplacental ridges might be more aptly described as ribs, as they are longitudinal outgrowths attached merely by a narrow line or neck of tissue (Pl. V. fig. 4).

Histology of the Interplacental Ridge.—Outside are large epidermal cells which become small at the neck (Pl. V. fig. 4). Within succeed about three layers of parenchyma-cells isodiametral in transverse section. These dwindle in size towards the flanks of the vascular bundle which lies at the constricted portion of the ridge. On the inner side of the vascular bundle are three layers of small parenchymatous cells, within which is the internal epidermis, made up of short, small cells lining the cavity of the ovary at this point. Starch occurs mainly or solely in the middle layer of parenchyma on the outer side of the bundle, and in the cells of the internal epidermis.

Histology of the Anteplacental Ridge.—This has no narrow neck. The vascular bundle is surrounded by about three layers of large parenchymatous cells containing starch, which is also found in the parenchyma forming the proximal portion of the placenta.

The *tissue connecting the inter- and ante-placental ridges* is peculiar. Commencing at the interplacental region, the cells of the internal epidermis suddenly change their shape and direction. They become elongated transversely to the long axis of the ovary and parallel with the surface. The ground-tissue cells outside then undergo a similar change, so that the inner half of this tissue is made up of conducting parenchyma, the cells of which are elongated at right angles to the course of the vascular bundles and contain starch. They are continued from the small starchless parenchyma lying within the interplacental ridges to the large starch-containing parenchyma round the anteplacental bundles. At the interplacental region the change from the

starchless cells inside the ridge to the elongated conducting parenchyma with starch is sudden, and corresponds with constriction of the ridge. At the constriction itself all the cells, including the epidermal, have starch, and the starch-containing cells on the other side of the bundle here are joined to the outer epidermis (Pl. V. fig. 4). The outer half of the tissue connecting the two ridges is devoid of starch, and is constituted of the outer epidermis and two layers of large parenchymatous cells. Some of the latter contain raphides and mucilage. These histological details suggest that, when the fruit is developing, the plastic products carried up by the interplacental bundles are rapidly transferred to the placentæ by the peculiarly developed conducting parenchyma-cells, and that even the inner epidermis plays the same *rôle* of conduction.

General Remarks on Aphyllorchis.

On the whole, histological evidence confirms the view gained from the examination of the grosser morphology of *Aphyllorchis*: that is, that the loss of chlorophyll has not been associated with any fundamental changes in the structure of the plant. It is hence possible that we are dealing with a holosaprophyte which has tolerably recently lost its power of assimilating carbonic acid. The points in which the plant resembles a typical autotrophic plant or a green orchid are: a full development of root-hairs, the occurrence of a typical exodermis, normal vascular bundles, and stomata. With reference to the occurrence of stomata, they do not alone denote that the plant has only recently lost its chlorophyll; for stomata occur in the much modified holosaprophyte, *Epipogum aphyllum*, on the rhizome, and still more remarkably on the curious holoparasitic *Lennoaceæ*.

The occurrence of well differentiated water-conducting constituents in the xylem renders it highly probable that there is a considerable transpiration-current. Doubtless the widely open stomata on the subterranean scale-leaves and those on the aerial parts of the shoot enable the plant to get rid of its excess of water. The presence of distinct intercellular spaces under these stomata does not necessarily imply that the water is sent out in a gaseous form, though it may at first seem more probable. Clearly, then, in this plant the leaves, as in *Galeola*, are essentially the organs of transpiration for the plant; and, just as in *Galeola*, there is a relative dwindling of the phloëm in the bundles of the

leaf. The plant as a whole is less xerophytic in structure than is *Galeola*; everywhere it is coated with an external layer of cells which have walls thinner and less cuticularized than in *Galeola* (excepting the isolated spots on the scales of the latter). Whether this is to be associated with the particular nature and habitats of the two plants, or with the fact that *Aphyllorchis* has a more extensive absorbing surface, it is impossible to say.

Lecanorchis malaccensis, *Ridl.*

This holosaprophytic orchid was first described by Mr. H. N. Ridley in the Transactions of this Society, 2nd ser., Bot. vol. iii. p. 377, and he was good enough to send me one of his specimens. Plate 65 in Mr. Ridley's paper represents the specimen, and shows a descending rhizome to which are attached a number of feebly branching, horizontally extended roots. Two inflorescence-axes rise from one end of the rhizome.

Histology of the Root.

The adventitious roots of this plant are long, feebly branched, slightly succulent, and extend horizontally from the vertically descending rhizome.

Externally the whole root-system—the young parts as well as the old—is coated with a dense covering of particles of humus. This suggests that the older portions of the roots are able to absorb, just as are the younger, and histological investigation confirms this view.

To describe first the structure of a mature part of the root:—

(1) The piliferous layer is represented by a single layer of cells. None of these cells grow out into root-hairs. In most regions of the roots this layer persists, though here and there are patches where the cells have been partially disintegrated, so that only their lateral and inner walls persist. The cells are elongated in the direction of the root-axis; their walls are thin, but lignified, and a delicate cuticle clothes them externally. The walls are not evenly thickened; delicate filamentous thickenings mark the longitudinal walls in a direction at right angles to their length (Pl. V. fig. 5). Most of the cells are devoid of protoplasm, but isolated cells outside the passage-cells of the exodermis are shorter, with more evenly thickened walls, and retain their protoplasm and a clearly defined nucleus. Thus the *piliferous layer is represented by a slightly modified velamen con-*

sisting of one layer of cells. Mycorhizal hyphæ may be seen outside the roots and penetrating and traversing many of these cells.

(2) *Exodermis* (Pl. V. fig. 5).—This forms a remarkably distinct and regular layer of cells. Most of its cells are elongated longitudinally, and their radial diameters are longer than their tangential; they have very thick, stratified, cuticularized walls, with middle lamellæ, which are lignified excepting towards the subjacent cortical cells. The lateral and internal walls have simple pits; the external walls are not pitted. Scattered amongst these cells are the smaller passage-cells, with thin lignified walls and dense protoplasmic contents. Each passage-cell is shaped like a truncate cone with the broad base inwards. Its lateral walls have numerous simple pits, placing it in communication with the adjoining exodermal cells. To render the inflow of liquids still more easy, the inner wall of the passage-cell is frequently pitted.

The majority of the mycorhizal hyphæ pass in *viâ* the passage-cells, but a few pierce the other exodermal cells.

Within the exodermis there succeed about eight layers of cortical parenchyma, the cells of which have thin, pitted, cellulose-walls. Of these about four layers form an

(3) *Exocortex*, which is made of cells which are more elongated and narrower than those comprising the inner portion of the cortex. Many of these cells have coiled mycorhizal hyphæ, and amongst them occur scattered raphide-mucilage cells. In my specimen, which was in blossom, no starch occurred in these cells.

(4) The *inner portion of the cortex* is constituted of broader and shorter cells, excepting those immediately outside the passage-cells of the endodermis, which are narrow. In mature parts of the roots of my specimen neither starch nor mycelial masses occurred. In the youngest parts of the roots mycelial masses were to be seen in all stages of formation. The change in the nuclei of the cells in which the masses were commencing was striking. The nuclei evidently increase in size, and become packed with relatively very large, deeply staining granules. In these young parts of the root mycelial masses occurred in all the layers of the inner portion of the cortex, including the layer immediately outside the endodermis. Thus there is *no distinction into a mediocortex and an endocortex.* It is to be noted that in the mature parts of the roots of this plant not a grain of starch was visible, nor was there a trace of mycelial masses. This plant was just at that stage during which it would

be most rapidly draining the roots of any plastic products, *i. e.* it was flowering (*cf.* the disappearance of starch in rhizome of *Corallorhiza* only when the flowers are forming). It may be suggested that the mycelial masses also have been absorbed from all parts of the roots save the youngest.

(5) *Endodermis* (Pl. V. fig. 6).—In transverse section this single layer has an exceedingly characteristic appearance; it belongs to the C-type, with the lateral and inner walls thickened. The cells composing this layer are of unequal size. Outside each bundle of phloëm there may (still in transverse section) be either one or two large endodermal cells with very thick suberized C-walls. On each side, going towards the xylem radii, the endodermal cells dwindle in size and their walls become thinner. Outside each group of xylem stand one or two passage-cells with feebly suberized walls. Longitudinal sections reveal the fact that the endodermal cells are elongated in the direction of the axis, and that the passage-cells form, not isolated spots but continuous lines or bands, outside the bundles of xylem.

The *stele* commences with a

(6) *Pericycle*, a single layer of short parenchymatous cells. Outside the bundles of phloëm these have thick, lignified, pitted walls. Outside the bundles of xylem some of the cells retain their thin, unmodified, cellulose-walls.

The central cylinder is pentarch, and the whole of the conjunctive tissue is constituted of sclerenchymatous fibres. Thus it comes that the five feeble bundles of phloëm are completely encased in cells with thick lignified walls.

(7) Each bundle of *phloëm* consists of a few narrow sieve-tubes, fine companion cells with strap-like nuclei, and elongated parenchymatous cells with oval nuclei.

(8) Each bundle of *xylem* shows an increase in the calibre of the water-conducting constituents from without inwards. These form a radial row, and appear to be tracheo-tracheïdes.

(9) The bundles of xylem do not meet in the centre, so that there is a *sclerenchymatous pith.*

The intercellular system is not well developed in the cortex, and it almost completely disappears within the stele.

At the *base of the root* the inner layers of the cortex are converted into mechanical tissue composed of cells with thick lignified walls.

I had only one uninjured *root-tip* at my disposal. All that I can safely say with reference to it is that a root-cap was present.

Several roots showed processes of decay commencing at their apices. Fungal hyphæ made their way most rapidly up the stelar tissue; they traversed the cortex more slowly, as the cortical cells temporarily parried the attack by a thickening of their walls at the point of contact with the hyphæ.

Histology of the Shoot.

(i.) *Inflorescence-axis.*

(A) *Basal region* immediately above the attachment of the roots.

The axis is externally clothed by an

(1) *Epidermis* composed of longitudinally extended narrow cells. The walls have a tolerably thick cuticle, and the lateral and inner walls are suberized. The walls are in addition coloured blackish-brown, possibly owing to attacks by fungi. *Stomata* are present, and there appear to be traces of decayed hairs. (2) Within succeed some layers of *parenchyma* with thin walls, elongated longitudinally, and polygonal in transverse section. Raphide-mucilage cells occur isolated amongst these. (3) There is a *general sclerenchymatous sheath*, composed of about five layers of fibres. Towards the interior, these gradually pass into (4) the conjunctive parenchyma of the stele, the cells of which have thick, pitted, lignified walls. In comparison with the general sheath the conjunctive tissue is made up of shorter cells with wider lumina, and the intercellular spaces between them are better developed. (5) The scattered *vascular bundles* are larger than in the root. The vascular bundles lying near the general sheath are more or less collateral, but in transverse section are often peripherally elongated rather than radially extended. Towards the centre the bundles are not collateral, but display curious arrangements, which may be roughly described as transitions from a radial to a collateral arrangement, the xylem and phloëm being more or less intermingled. Pl. V. fig. 7 shows a bundle which is almost collateral, but the protoxylem does not lie exactly on the same radius as the phloëm. The *phloëm*, in comparison with that in the root, is relatively more increased than is the xylem. It consists of considerable masses of elongated

parenchyma, some narrow sieve-tubes and companion-cells. The *xylem*, in contrast to that of the root, contains a protoxylem formed of spiral, tangled, or annular vessels. In addition there are tracheïdes with transverse pits.

(B) *Higher up*, where the leaves are separated by long internodes, the axis is considerably thinner than at the base.

(1) The *epidermal cells* have very much thicker walls (Pl. V. fig. 8). There is an extremely thick cuticle. The outermost layer of the wall is coloured deep brown; within this the outer wall and the lateral and inner walls are suberized and are pale in tint. Only very few *stomata* occur in this region. (2) The number of *cortical parenchymatous* cells with thin cellulose-walls has diminished to one. (3) The *general sclerenchymatous sheath* is made up of three to four layers of fibres with enormously thickened, glistening, stratified, pitted walls, and small lumina. (4) The stelar conjunctive tissue is sharply marked off from the general sheath, and consists of elongated parenchyma-cells with thin walls. The scattered vascular bundles are small. (5) The *vascular bundles* are collateral, but possess no sheaths of their own. The *phloëm* is well developed, and is separated from the *xylem* by a layer of elongated parenchyma, the cells of which have thin, pitted, cellulose-walls. In the larger central bundles protoxylem in the form of spiral vessels is embedded amongst elongated narrow parenchymatous cells [phloëm (?): I saw no sieve-tubes amongst these].

(ii.) *Histology of the Rhizome.*

Compared with the base of the inflorescence-axis the rhizome possesses more numerous leaves, and from it radiate numerous roots. The vascular bundles running out to these complicate the structure of the rhizome. Compared with the floral axis, all the constituent cells are shorter in an axial direction, more numerous layers of the cortex have their walls lignified, so that there remains but one cortical layer with walls of cellulose. In the vascular bundles the xylem (tracheïdes and spiral vessels) is developed better than in any other part of the plant.

(iii.) *Structure of the Scales.*

The scales have sheathing bases which are pressed against the axis. Each consists of an upper (inner) *epidermis*, a lower

(outer) *epidermis*, and a *mesophyll* composed of slightly elongated parenchymatous cells, amongst which the vascular bundles run. *Raphide-mucilage cells* occur in the mesophyll, and are more numerous than in the neighbouring portions of the axis. The outer epidermis has thicker, more heavily cuticularized walls than has the inner epidermis. *Stomata* occur in the outer epidermis only, being most numerous in the subterranean scales, and constantly decreasing in number higher up the axis. Their shapes are varied and they remarkably resemble those of *Aphyllorchis*. The *vascular bundles* run nearer the upper (inner) surface of the leaves. When entering the leaves possess tracheïdes and spiral vessels, sieve-tubes, parenchyma-cells. In the finer bundles the spiral vessels disappear, and the phloëm is represented by a mass of parenchyma, but the tracheïdes increase in number, and when the phloëm is completely lost the bundles consist solely of a number of tracheïdes running immediately within the inner epidermis. Thus there is a *hypodermal of tracheïdes like that in Galeola*. And, just as in *Galeola*, this system is most extensively developed in the subterranean scales and least in the bracts. In fact, high up the inflorescence-axis this system is, in parts of the leaf, only represented by single tracheïdes completely isolated from the vascular bundles: thus, as in *Galeola*, some of the mesophyll-cells are converted into tracheïdes.

It is worthy of note that, going from the rhizome to the top of the inflorescence-axis, the scales diminish in size and number, the stomata on the scales and axis also decrease in number, the hypodermal tracheïdes of the scales dwindle, the cuticle of the axis becomes very much thicker, and the water-conducting xylem dwindles. These facts again suggest that the leaves are organs by which the plant rids itself of any excess of water. Side by side with these histological changes there is a concentration of mechanical tissue into the general sclerenchyma-sheath, which acquires thicker walls, and at the same time a dwindling of the cortex outside this sheath.

In my specimens fungal hyphæ had penetrated all the scale-leaves *viâ* the inner epidermis. High up the inflorescence-axis I saw hyphæ running up the xylem, but nowhere else in the sections. So I suppose that the hyphæ could only gain entrance by means of the scale-leaves, and, traversing the leaf-bundles, they reached the bundles of the axis without being obliged to pierce the apparently impenetrable general sheath.

General Remarks on Lecanorchis.

Lecanorchis reminds one alternately of *Aphyllorchis* and of *Galeola*. In general shape, and the possession of curious stomata, it vividly recalls *Aphyllorchis*. In its strongly xerophytic structure—for a strong cuticle coats the shoot as a whole—and in particular in the hypodermal tracheïdes of the scales, it resembles *Galeola*. It differs, however, from both plants in the curious modified velamen which clothes its roots, and in the absence of any root-hairs.

Epipogum nutans, *Reichb. f.* (Galera nutans, *Blume*).

The genus *Epipogum* includes two species: the one, *E. aphyllum*, being distributed over Europe and Northern Asia; the other, *E. nutans*, found in tropical Asia, Africa, and Australia.

Of *E. nutans* Blume speaks as follows:—

"*Habit.* Semel tantum in eam incidi in declivibus uvidis ad montem Salak Javæ occidentalis, mense Novembris florentem.

"*Descr. Tuber* solitarium, sesquipollicare, elongato-ellipsoideum, obtusum, terræ oblique immersum, solidum, carnosum, intus albidum, extus fuscum, obsolete annulatum. *Scapus* circiter pedalis, crassitieæ pennæ cygneæ, teres, fistulosus, eburneus, semipellucidus sive florum instar aspectus quasi vitrei, inferne rectus ac squamis aliquot distantibus amplexicaulibus obtusis tenuissimis membranaceis primo appressis tandem disruptis vaginatus, superne flexuoso-nutans, bracteis plurimis alternis vagis erecto-patentibus lineari-lanceolatis acuminatis membranaceis pallidis unifloris circumsessus . . . ."

Fig. 2.

Epipogum nutans.

This species agrees with the European *E. aphyllum* in the

entire absence of a root, in the mature state of the plant. And it may at once be stated that *E. nutans* produces on its rhizome numerous hairs which function as root-hairs, as does the European form. To amplify Blume's description, it may be added that large old tubers become hollow by a splitting process taking place in the central ground-tissue. Fig. 2 represents a tuber of size below the average.

All my specimens had inflorescence-axes clearly developed.

Histology of the Rhizome.

(i.) *Scale-leaves* (Pl. VI. fig. 2).

Selecting one of the smaller tubers, which was apparently covered by a brownish felt-work, and displayed no distinct annulation, sections revealed the following appearances:—Outside the rhizome is a densely matted mass of fungal hyphæ, some of which are dead and discoloured. The scale-leaves are broad and completely invest the rhizome. Not only do they completely clothe the rhizome but, except at their apices, they are also so closely pressed against, and adherent to, the axis that on first examination the scales appear as if they were merely the epidermis and a few cortical layers of the axis; and their axillary buds present the appearance of endogenous buds. At this stage the entire epidermis of the axis is adherent to the upper (inner) epidermis of the scale-leaves, so that not only force, but the employment of reagents, such as eau de Javelle, is necessary to separate the two, even in the thinnest sections to be made by hand. No air-containing spaces between this inner epidermis of the scale and the epidermis of the stem could be made out. The outer walls of both of these layers are very thin and cuticularized. Thus the solitary points at which the rhizome communicates directly with the exterior, by cells with walls which are not cuticularized, are the lines of attachment of the scale-leaves. The lower (outer) *epidermis* of the scale-leaf is made up of large cells with thin walls only feebly cuticularized. But very many of these cells grow into enormously *elongated narrow hairs* with thin, non-cuticularized walls, which indubitably *function as root-hairs*. The hairs are coated with particles of humus which cling closely to them, and they are sometimes possessed of short blunt branches (Pl. V. fig. 10). In addition many of the hairs contain fungal hyphæ (Pl. V. fig. 9) which are presumably mycorhizal in nature—for protoplasm is

present in the infected cells of the hairs. In my alcohol-preparations the walls of many of these hairs had split into single spiral ribbon-shaped bands.

Within this epidermis lie 2–3 layers of large parenchymatous cells (mesophyll), which are elongated longitudinally and rather flattened parallel to the surface; this suggests that conduction takes place down the scale-leaf rather than from the outer epidermis to the inner epidermis.

The inner *epidermis* consists of small flattened cells. I failed to detect any vascular bundles within the scales, though leaf-trace bundles run in the rhizome to their bases.

(ii.) *Histology of the Rhizome-axis* (Pl. VI. fig. 1).

The fleshy axis itself is mainly constituted of large parenchymatous cells with very thin walls. Though devoid of starch they contain more or less mucilage, but in the outer layers of the cortex some raphide-mucilage cells occur in addition. In the rhizomes richer in starch, several layers of cells with thin cellulose-walls occupy the position which would normally be taken by a *general* sclerenchyma-*sheath*; they contain numerous grains of starch, and thus clearly mark out a general sheath (Pl. V. fig. 1). The parenchyma-cells immediately round the vascular bundles also contain starch. In the rhizomes from which much starch has been conducted up to the inflorescence-axis there is no accumulation of starch in a general (potential) sheath. This starch, like that in *Monotropa*, does not react typically with iodine-reagents. At first it colours red (varying from a dull red to a red-violet) probably because of the presence of erythrodextrin; with strong iodine the typical blue colour finally appears. Outside the general sheath the layers of cortex are devoid of starch; but the parenchyma around the leaf-trace bundles traversing this region of the cortex contains starch-grains. In the starch-containing cells I could see no trace of mucilage. Thus there appears to be a differentiation into water-storing cells and starch-containing cells. There are but few cortical layers outside the general sheath; thus it is the greatly enlarged stele which makes up the main mass of the swollen rhizome.

Each *vascular bundle* is collateral, and has a well-defined phloëm and xylem. The *phloëm* (Pl. VI. fig. 3; Pl. V. fig. 11) is greatly developed, and consists mainly of elongated parenchyma-cells,

narrower than those composing the greater part of the ground-tissue, but still very broad, considering their location. There are a few sieve-tubes with very distinct calli on the sieve-plates, and narrow companion cells. The *xylem* is not less remarkable; it is made up of large reticulo-spiral tracheïdes (or tracheæ ?) with relatively thin walls, many of them being of extraordinarily wide calibre (Pl. VI. fig. 3).

The small leaf-trace bundles in the cortex are composed of narrow tracheïdes, sieve-tubes, and parenchyma. The sieve-tubes extend nearer to the scale-bases than do the tracheïdes.

The cells comprising the cortical parenchyma just at the point of insertion of the scale, and mesophyll of the scale itself, have markedly pitted walls.

No traces of mycorhizal hyphæ occurred within the axis itself, though the inner epidermis of the scales had conspicuous mycelia. Mycelial masses were absent from scales and axis.

Histology of the Inflorescence-axis.

The axis is hollow at the internodes. The *epidermis* consists of exceedingly elongated narrow cells. No stomata or hairs occur, excepting that at the base of the axis a few hairs are found where the axis commences to be visible between the scale-leaves. The walls are very thin and feebly cuticularized. In the internodes a number (about 25) of *layers of parenchymatous cells* with delicate walls lie within the epidermis, and amongst them are relatively well-developed intercellular spaces. Towards the periphery some of these contain *mucilage* and *raphides*. Only those cells immediately round the vascular bundles possess starch, and then in a small quantity. There is no trace of a general sclerenchyma-sheath. The vascular bundles are disposed in several circles, but the outer layers of the ground-tissue are devoid of bundles. The *phloëm* is well developed, its parenchymatous cells being much narrower than in the rhizome. All the constituents of the phloëm are more protoplasmic and have richer contents than in the rhizome. In comparison with the rhizome, the difference in the *xylem* is most marked. The conducting elements are much reduced in calibre, being represented by a number of very narrow annular and spiral vessels. No pitted tracheïdes occur here or in the rhizome. In each of the inner bundles a lysigenous intercellular space is formed

by the breaking-down of all the vessels save a circle of narrow annular vessels with few widely separated annuli. In the outer bundles this disorganization takes place to a considerably less extent. The bundles have no sheaths of sclerenchyma. Thus there is, as in the rhizome, a complete absence of mechanical tissue; the walls of all the cells are delicate and composed of unmodified cellulose, with the exception of the thin cuticle on the epidermis and the lignified walls of the insignificant bundles of xylem.

Histology of the Scales on the Inflorescence-axis.

I had at my disposal only the portions of the axis below the attachment of the flowers, and hence cannot describe the histology of the bracts. A scale which is above the ground displays the following structure:—It is composed of a lower (outer) *epidermis*, about five layers of *mesophyll*, and an upper (inner) *epidermis*, more or less applied to the axis. The epidermal cells have delicate walls and are longitudinally elongated and narrow—much longer and narrower than those on the subterranean scale. There are neither hairs nor stomata. Cuticle on the outer epidermis is very thin, and is all but imperceptible on the inner epidermis. The elongated cells comprising the mesophyll have tolerably developed intercellular interstices and slender walls; amongst them are numerous larger, elongated, *raphide-mucilage sacs*, which are most abundant close within the outer epidermis. These sacs are more abundant than in corresponding parts of the axis (cf. *Galeola*).

The *vascular bundles* which enter the scales are small and simple, the conducting *xylem* being represented by 2–3 fine annular or spiral vessels, and the *phloëm* being composed of a little mass of parenchyma and very narrow elongated elements, in which I could detect no differentiation into sieve-tubes and companion-cells. No starch occurred in these scales. Again, in the scales there is a complete absence of mechanical tissue. Ascending from the rhizome to the floral region, it will be noted that the scales become narrower and relatively longer. And the transition from the subterranean scales to the aerial ones is histologically a gradual one. At the extreme base of the inflorescence-axis the scales overlap one another and the portions which are overlapped have no hairs, but the free apical parts of these scales have long hairs on which particles of humus cling. On the scales which are inserted upon the aerial part of the axis

the whole of the epidermis is hairless. From this it may be concluded that the *hairs were evolved* (or preserved?) *to act as absorbing organs.*

General Remarks on Epipogum nutans.

The fact that the rhizome-axis is all but perfectly covered by scales, which adhere closely and tenaciously to it, at once suggests that the latter are the absorbing organs of the plant. This view is confirmed when we note that countless long hairs grow out from the exposed epidermis of the scales, also that these hairs penetrate masses of humus which are permeated by fungal hyphæ, and that mycorhizal hyphæ enter the hairs and occupy all the cells of the scales. That the hairs perform their particular functions when the scales are underground, and exposed to the humus, is shown by the gradual manner in which they undergo complete atrophy in scales placed higher up the axis.

The shape of the cells forming the subterranean scales suggests that the substances absorbed by the hairs are transported to the bases of the leaves and thence into the rhizome, and not across the scales straight into the epidermis of the axis. Further evidence for this view is derived from the fact that the leaf-trace bundles may have, even at the bases of the scales, a strong sheath of cells containing starch, whereas no starch occurs in any other parenchyma-cells of the outer cortical layers. On the other hand, we can conclude that the inner epidermis of the scales and the epidermis of the rhizome prevent or retard the inward passage of liquids. Thus these two layers play the part of suberized exodermal cells; and the heavily-pitted cells at the bases of the scales may be compared to the passage-cells of an exodermis. Again, as there appear to be no mycorhizal hyphæ in the axis of the rhizome while there are mycelia in the scales, the latter may physiologically represent the exocortex of the roots of saprophytic orchids (*Galeola*, *Aphyllorchis*, *Lecanorchis*, *Neottia*), or of the axis of the rhizome (*Epipogum aphyllum* and *Corallorhiza innata*).

As the rhizome is drained of its contents by the growing inflorescence-axis, the starch diminishes. It disappears from the general sheath before it deserts the bundles lying within. The parenchyma-cells at the base of each scale acquire slightly thicker walls, which become suberized, and the scales die. The advantage of the suberization of these basal cells when the leaves die is

explicable on the assumption that they prevent the escape of water and the entrance of hurtful fungi.

In the larger and more completely drained rhizomes which I had, no scale-leaves were visible except in fragments, so that their original lines of insertion were visible and caused the annulation described by Blume. In addition, the tuber had become hollow. This may possibly have been the result of the immersion in methylated spirits, but appearances suggested that this hollow condition was occasioned before death, probably because the tubers supplied water to the inflorescence-axis more rapidly than they could absorb it from the soil.

A comparison between *Galeola* and *Epipogum nutans* is instructive.

Both are orchidaceous holosaprophytes. In *Galeola* the subterranean part is mainly constituted of the root-system. There are well-developed succulent roots, which act as the absorbing organs; these are coated for the most part by thick-walled cells, which would at first sight seem incapable of absorbing, and there are only very few stunted broad root-hairs. The scale-leaves possess a peculiar apparatus for storing water, and are primarily organs for getting rid of water. In *Epipogum nutans* there is absolutely no root-system; the subterranean part of the plant is formed solely of a swollen tuber with scale-leaves. The absorbing organs are the scales, which send out innumerable greatly elongated hairs functioning as root-hairs; absorbed water is largely, or entirely, stored up in the water-storing cells of the rhizome, and there is no definite mechanism for getting rid of any excess of water when the plant is not flowering.

Corresponding to the opposite functions of the subterranean scales in the two plants, their structure is very different. And the structure and the contents of the vascular bundles in or going to the scales vary in a like fashion. In *Galeola* there is a huge development of xylem in the scale. In *Epipogum* I could detect no bundles. In *Galeola* the regions of axis near the attachment are devoid of starch, and the leaf-trace bundles have no starch or very little. In *Epipogum* the leaf-trace bundles are markedly clothed with a sheath of starch-containing parenchyma, the starch in which is being conveyed to the central parts.

In *Galeola* and *Epipogum* alike the absorbing organ is enveloped in a sheath of cells containing living fungal hyphæ and no starch (exocortex in *Galeola*, scale-leaves in *Epipogum*).

The conducting xylem, mainly composed of pitted tracheïdes in *Galeola*, is more completely developed in the inflorescence-axis than in the absorbing roots. In *Epipogum* the xylem of the absorbing rhizome is immensely developed and is composed of wide spiral-reticulate tracheïdes (or tracheæ); it is more feebly represented in the inflorescence-axis and, in fact, largely replaced by an intercellular space.

Throughout, the plant *Galeola* is covered by cells with very thick cuticularized walls excepting over the patches on the inner faces of the scales; the intercellular spaces are small; mechanical tissue is greatly developed in the cortex and in the stele. *Galeola* is structurally a xerophyte. Throughout, the plant *Epipogum* is covered by cells with very thin walls, possessing only a thin cuticle or not one at all; the intercellular spaces are large; there is no mechanical tissue whatever. *Epipogum* is structurally a hygrophyte as regards its superterranean parts. This may be due to the habitat (the plant being found in wet dark places), or possibly is associated with the structure of the subterranean parts, *i. e.* the great production of absorbing hairs tends to allow the shoot above ground to be less xerophytic, and the presence of a large water-reservoir further acts in the same direction (compare thin leaves of orchids with pseudo-bulbs).

Corysanthes, sp.

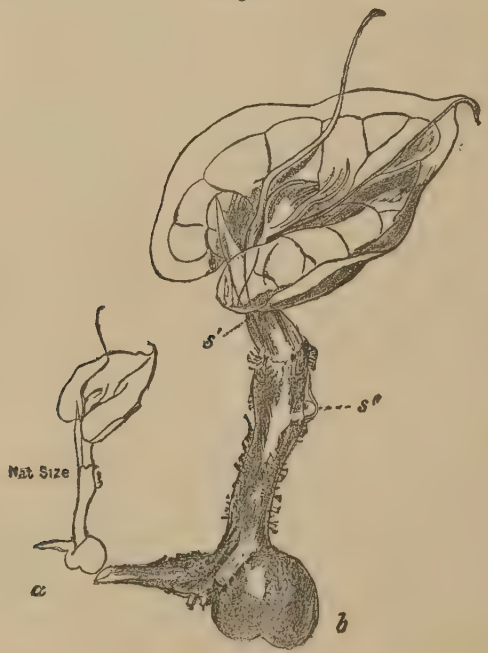
Our knowledge of terrestrial orchids in Europe leads us to infer, as did Reinke, that many green forms growing in substrata rich in humus are hemisaprophytes. Remembering further that holosaprophytes usually are characterized by the possession of colouring-matters,—the presence of a prominent colouring-matter in green terrestrial orchids or the absence of chlorophyll from certain parts of their leaves would cause us strongly to suspect such orchids of hemisaprophytism. In the hope of obtaining some structural evidence of this view, I asked Mr. H. N. Ridley if he would be good enough to send me any Malayan terrestrial orchids which were found growing in a nidus rich in humus and having a habit more or less like *Anœctochilus*. In reply Mr. Ridley kindly sent me a species of *Corysanthes* which he found growing on shaded rocks which were carpeted with moss.

Judging by the habitats of its species, *Corysanthes* seems to be a hemisaprophyte. Blume (1) gives the habitats of three Malayan

species as follows:—*Corysanthes picta* (with a pink colouring-matter): mount Salak in Java, growing in light humous soil, or epiphytic on old and mossy tree-trunks. *C. mucronata*: mount Pangarango in W. Java, growing amongst decaying vegetable remains. *C. fornicata*: mount Salak in Java, on the decaying trunks of trees.

The morphological investigation of the species which I have examined confirms the view that *Corysanthes* is a saprophytic genus.

Fig. 3.



Corysanthes, sp.

Fig. 3 represents the species investigated; and in external form it appears most like *C. picta*. The flowers in the two specimens I had were unopened.

The plant possesses only one foliage-leaf, ovate-cordate, with a fine tapering apex, a conspicuous midrib, two marginal veins and a number of smaller reticulate veins. Below this leaf, on the opposite side of the erect axis, is attached a second leaf (*s'*) in the form of a scale. The axis continues downwards as a vertically descending hairy rhizome. Lower down it, and inserted vertically

below the foliage-leaf, is a second scale (*s''*), in the axil of which is a well-marked bud. Thus the three leaves have a distichous arrangement. This erect axis at its lower end is attached to a tuberous body which is feebly bilobed and is less hairy than the axis. Near the junction of the tuber and the erect rhizome several (2–3) hairy root-like processes radiate, and arise, from the tuber. So much can be seen with the naked eye.

Histology of the Tuberous Body.

In the tuber there is a regular external layer having its thin walls cuticularized, but with *no stomata*. Many of the cells grow out to form long slender unicellular hairs with cuticularized walls. For the most part fragments of humus do not cling to these hairs, which are not irregular or lobed; but humus adheres to some of the hairs, which are furthermore irregular in contour or even lobed towards their extremities. Straight hyphæ occur in many of the hairs; also hyphæ occur in some of the general cells of the external layer, some of which are discoloured. But no coiled mycorhizal mycelia are found. Beneath the superficial layer is a well-defined *exodermis* (Pl. V. fig. 12), constituted of cells with thin suberized walls. I failed to detect any special passage-cells. Within the *exodermis* succeed about ten layers of cortical parenchyma, the cells of which are large and are crammed with *large* starch-grains. In the centre of the tuber is a disproportionately narrow stele with small vascular bundles. The *endodermis* is thin-walled, and is succeeded by a single layer of pericycle. Typically the stele may be described as triarch, though all sections do not display the same arrangements. There are three small groups of *xylem*, in the form of spiral-reticulate tracheïdes, which dip deeper towards the centre than do the three groups of *phloëm*.

Histology of the Rhizome below the attachment of the Upper Scale.

An *epidermis* with thin cuticularized walls forms the external layer. Amongst the cells are scattered *stomata* which gape open and are normal in appearance.

The surface is raised into many multicellular cylindrical or conical *outgrowths*. The terminal cells of these grow out into usually four or five (4–8) long hairs (Pl. VI. fig. 6). Typically the multicellular outgrowth consists at its base of an axial row of

cells surrounded by five rows of cells (Pl. VI. fig. 7). The superficial cells may decrease in number higher up the protuberance. Clinging to the hairs are particles of humus, around or against which the hairs may coil or flatten themselves. Mycorhizal hyphæ penetrate by means of the hairs, and enter the cortex of the rhizome *viâ* the axial cells of the outgrowth (Pl. VI. fig. 8). By no other channel do the mycorhizal hyphæ penetrate the plants: hence the general epidermal cells contain no hyphæ. The hairs and the superficial cells of the protuberance are feebly cuticularized. Below the lower scale (*s''*) every hair appears to be permeated by mycorhizal hyphæ. Above the lower scale the protuberances are many of them larger, and their hairs are much more elongated, straight, and more slender; these long hairs are not penetrated by hyphæ nor do particles of humus cling to them. At the same level other protuberances are just similar to those described as occurring lower down; they have more irregular broader and shorter hairs containing hyphæ. Here, then, the direct effect of the mycorhizal hyphæ (or of absorbing fluid?) is to shorten and broaden the absorbing hairs. For I assume that these hairs throughout function as root-hairs, since they are intimately associated with particles of humus and with mycorhizal hyphæ.

Within the epidermis succeed about ten layers of *cortical parenchyma*. (There is no trace of an exodermis.) In some spots three to four outer layers of parenchyma contain mycorhizal hyphæ forming typical coiled mycelia (Pl. VI. fig. 8). These cells contain no starch or very little, and the hyphæ can be directly traced from them out to the protuberances. The rest of the cortical cells near the insertion on the tuber contain *small* starch-grains; or some of them are raphide-mucilage cells. The intercellular spaces are of medium size. Ascending towards the scales the starch diminishes.

There is a curious *endodermis*, irregular and with thin walls. The typical dots are to be seen mainly, but not exclusively, on the radial walls of these cells (Pl. VI. fig. 9). Within there is an interrupted layer of *pericycle*. The vascular bundles are abnormal. There is a clear tendency to a radial arrangement, but the bundles of *xylem* are placed nearer the centre of the stele than are the *phloëm*-bundles; and groups of phloëm stand both between and radially outside the bundles of xylem.

The bundles of *xylem* are feebly developed, being represented by about three groups of tracheïdes which have transverse pits

(scalariform-reticulate). In addition there run in the centre of the stele little bundles of very narrow spiral vessels (Pl. VI. fig. 9), which may or may not be connected with the bundles of tracheïdes. In transverse sections some of the spiral vessels are in connection with the tracheïdes: hence it seems probable that they are portions of these bundles which are undergoing atrophy. It is possible, however, that the isolated spiral vessels represent other bundles which have almost disappeared, inasmuch as the bundles of tracheïdes are less numerous than the bundles of phloëm.

The bundles of *phloëm* are better developed. They consist of sieve-tubes, companion cells, and parenchyma. There are three bundles between the groups of xylem, and these are laterally connected with small groups outside the bundles of xylem, so that an incomplete ring of phloëm is formed.

For the rest the stele is composed of parenchyma with thin unmodified walls.

No mechanical tissue exists in the rhizome.

At the base of the rhizome on one side there was, in both my specimens, a minute bud in the axil of a microscopical scale. Below this, at the immediate region of its attachment to the tuber, the rhizome narrows considerably, owing to a diminution in the number of cortical layers. Mycorhizal hyphæ do not pass through this constricted region into the tuber.

Histology of the Radiating Root-like Processes.

Examination at once reveals the fact that these repeat the structure of the rhizome described, and are therefore modified stem-structures. The epidermis has stomata; the multicellular protuberances with their terminal hairs are numerous. The layers of cortex are smaller in number, being most numerous at the proximal end (six layers at most). All these layers, excepting possibly the innermost which lies without the endodermis, contain coiled mycelia. No starch is present in any of the layers excepting in the inner layer when it has no mycorhizal hyphæ. The endodermis and stele are merely small versions of the same structures in the main rhizome. The apices were not perfectly intact, but they were sufficiently preserved to allow the statement that no root-cap was present. At its point of attachment the root-like process becomes constricted like the main rhizome (Pl. VI. fig. 5). At this constricted region the cortical cells form a more or less complete layer of cells with

thick suberized walls. Thus free transport of material to or from the tuber takes place only through the stelar tissue.

Just above the constricted region there is on the upperside a dead, brown scale, otherwise no scales occur in these secondary rhizomes. In the proximal portions some of the cortical cells may have no mycorhizal hyphæ; in the inner layers of the cortex of this region the mycelia have been converted into the well-known refractive masses.

Histology of Axis above the Upper Scale.

The epidermis is smooth. Just above the insertion of the upper scale-leaf the axis is terete, but the stele stands nearer the side on which the scale is attached. And two minute vascular bundles (really meristeles) run vertically upwards on that same side. Higher up two ridges appear in section; thus the stem is raised into two folds. Within each ridge lies one of the two meristeles. Ascending the stem the ridges increase in size and gradually resolve themselves into the margins of the foliage-leaf, and the subjacent meristeles are the two large marginal nerves. Beginning at the level of the upper scale, the central stele commences to show changes in structure. The endodermis has become quite unrecognizable; and the groups of phloëm and xylem as we ascend from this point gradually arrange themselves in a collateral fashion. In particular one bundle becomes marked off, on the side towards the ridges, by two conspicuous medullary rays, from the more closely united mass of 3–4 other bundles.

Where the foliage-leaf is apparently attached to the stem a large bundle runs into the leaf; and the axis above the foliage-leaf has four vascular bundles forming a ring. (In my specimens these 4 bundles were still in an embryonic condition, consisting of a mass of procambium, for the flowers were still in a bud-condition.)

Histology of the Leaves.

The *minute scale-leaf* (*s''*) consists simply of an outer (lower) and an inner (upper) epidermis and parenchyma-cells. No vascular bundle enters it, nor is a leaf-trace bundle given off to it, though a bundle goes to its axillary bud. No hairs occur on the leaf; the sole function possible to this minute scale-leaf is to protect the bud.

The *larger scale-leaf* (*s'*) is a little more complicated. It is

smooth, has an outer (lower) and an inner epidermis, which are not markedly different from one another, except that a few stomata occur in the outer (lower) epidermis. The mesophyll consists of two to three layers of parenchyma with well-defined intercellular spaces. A few raphide-mucilage cells occur. Only one small vascular bundle enters the leaf and is a rudimentary midrib. At its point of attachment the scale-leaf has on its outer lower face some multicellular hairy protuberances like those on the axis.

The Foliage-Leaf.

The upper epidermis of the foliage-leaf is constituted of very large cells, which have thin walls: they make up between a half and a third of the whole volume of the leaf. So that the upper epidermis appears to form a well-developed water-storing layer; in it there are but few stomata except in the attenuated tip of the leaf. The cells have only a thin cuticle.

The mesophyll, in the thickest part of the leaf, is composed of three layers of cells, amongst which is a considerable system of intercellular spaces. The intercellular spaces are, however, not so large as in the case of a normal spongy parenchyma. There is no trace of a palisade-layer. Towards the margins and apex the mesophyll thins off, finally becoming one cell in thickness. The vascular bundles which run in the mesophyll are typical and are differentiated into xylem and phloëm. A few raphide-mucilage cells occur scattered in the general mesophyll. But at the margins and the acuminate tip of the leaf, these sacs are numerous and may form connected series; in fact the tip is constituted of epidermis, a central vascular bundle with its sheath of nerve-parenchyma, and a mesophyll-sheath mainly represented by raphide-mucilage cells. No starch was visible in the mesophyll, though many chromatophores occurred in its cells.

The lower epidermis consists of cells much smaller than those on the upper face. Many stomata occur amongst its cells, and starch was seen in the guard-cells. A very thin cuticle coats this layer.

General Remarks on Corysanthes.

The rough morphology of this plant, and the histological nature of the vascular bundles in the main axis, both suggest that the foliage-leaf does not supply the whole of the organic food found in the subterranean parts. Probably the plant is

well developed before the foliage-leaf unfolds: thus in *Corysanthes*, as the habit of the genus suggests, we are dealing with a hemisaprophyte. It illustrates the process of atrophy of green foliage-leaves till they become mere microscopical scales devoid of vascular constituents. The stem has become an absorbing organ, and developed entirely peculiar structures, before the plant has lost its chlorophyll. In particular this appears to show that we are not entitled to speak of degenerating effects of the loss of chlorophyll in holosaprophytes and holoparasites, for these changes commence before the loss of chlorophyll. It seems more correct to speak of the degrading effect of the absorption of organic matter, and to look upon the disappearance of the chlorophyll as one of the many structural simplifications.

As regards the tuber, the histological nature of the superficial layer and exodermis, the frequent absence of particles of humus from the hairs and the doubtful occurrence of mycorhizal hyphæ in them—all these facts associated with the fact that the starch-grains in the tuber are large, not transitory small grains—suggest that the tuber is an organ especially adapted for the storage of food, particularly of carbohydrates, and that it is, at most, only secondarily an absorptive organ. Further, it seems probable that the hairs, at any rate later in life, function as anchoring-threads * rather than as absorbing-cells.

From analogy with *Epipogum nutans* and *Dictyostegia orobanchoides*, it might be thought that the multicellular protuberances, with their hairs, represented reduced leaves. This view is negatived by their irregular arrangement: by their occurrence on parts above the insertion of the reduced leaves, and even on the base of the one leaf: and finally by the contrast between the structure of the smallest scale—quite smooth and hairless—and themselves. The distribution of the protuberances with their hairs makes it highly probable that *they are peculiar structures which were specially evolved to absorb nutrient material.*

Spiranthes australis, *Lindl.*

Judging *Spiranthes australis* by its relatives, it seems probable that the plant is hemisaprophytic. And this hypothesis is

* This passage was written before I heard from Mr. Ridley the habitat of this *Corysanthes*, but I judged from the structure of the hairs on the tuber that the plant grew on a hard solid substratum to which it was anchored by the hairs. Mr. Ridley found the plant growing on rocks.

strengthened on remembering the habitat of the plant. I found hundreds of individuals dotting the hill-sides on Dane's Island, Whampoa; all of them grew in black humous soil. Still there is a large leaf-surface, so I thought it might be worth examination.

Roots.

The roots are tolerably succulent. Outside is a persistent *piliferous layer* of one layer of cells, the outer walls of which are feebly cuticularized. The walls are marked with *reticulate cellulose-thickenings* which run in a direction at right angles to the axis of the root. Some of the cells grow out into very long slender *root-hairs*. Mycorhizal hyphæ penetrate by means of these hairs, and by them alone. Within is a typical *exodermis* with thin suberized walls and passage-cells. It is succeeded by about ten layers of cortical parenchyma, in some of the outer layers of which mycelia occur. Starch was found in all the cells excepting those infected with mycorhizal hyphæ, and excepting the raphide-mucilage cells. A thin-walled endodermis and a polyarch stele with an interrupted pericycle complete the structure.

Scape.

The scape is long and slender, and has only small bracts; it is almost as dependent on the purely vegetative part of the plant as is the scape of a holosaprophyte. Hence it differs from the latter only in the more numerous stomata and the larger intercellular spaces of the four-layered cortex.

---

*General Summary on the Morphology and Physiology * of Orchidaceous Saprophytes.*

1. The first general characteristic is the *relatively large development of subterranean parts of the plant, and the dwindling of the parts protruding into the air.* The food comes solely from the substratum and is entirely absorbed by organs lying in it. No nutriment is taken in by the aerial parts. A saprophyte may be compared to a submerged water-plant which has preserved its ancestral mode of producing flowers protruding into

* As all the physiological conclusions in this paper are drawn from analogy and from morphological observations, they must be regarded as tentative.

the air. In the holosaprophyte the flower-bearing axes alone emerge from the nidus in which the plant rests. Even in *Corysanthes* one sees that the major portion of the plant is concealed in the mass of decaying vegetable matter in which it grows; only one foliage-leaf and a flower are freely exposed to the light. In a later paper I shall show that in green *Burmannias* there is an analogous peculiarity.

2. The next point of interest concerns *the different modes in which absorbing-organs are formed*, and their various shapes. In some forms the roots alone (or almost alone) absorb (*Galeola javanica*, *Lecanorchis malaccensis*, *Aphyllorchis pallida*). In others it is the subterranean parts of the shoot which take in nutritive solutions; whilst the root-system is absent (*Epipogum*, *Corallorhiza*, or may (?) be represented by an organ mainly functioning as a food-reservoir (tuber of *Corysanthes*).

The *form* of the *absorbing-roots* varies considerably. *Galeola javanica* has a close tuft of relatively short, thick, fleshy, unbranched roots which are inserted on a small rhizome. *Lecanorchis malaccensis* and *Aphyllorchis pallida* have longer, more slender, feebly branched or unbranched roots which are attached to an elongated straight rhizome.

The *histology* of the *external layers of the absorbing roots* also displays considerable differences in the several plants. In *Galeola javanica* an irregular covering of cells with thick suberized walls coats the roots; the development of root-hairs is reduced to a minimum the few hairs present being short and broad. *Aphyllorchis pallida* has more numerous root-hairs, which are furthermore normal in shape. On the other hand, *Lecanorchis malaccensis* possesses a persistent external layer (corresponding to the piliferous layer) which is hairless but assumes the form of a modified velamen. It is interesting to note that in the terrestrial green orchid *Spiranthes australis* the roots have a persistent piliferous layer, some of the cells of which grow out into very long root-hairs, whilst others have their external walls cuticularized and their lateral and inner walls marked with reticulate thickenings of cellulose. The roots of *Spiranthes* and *Lecanorchis* seem to show that in Orchidaceæ the evolution of the velamen was not a matter of great difficulty; for it is foreshadowed in these terrestrial plants.

Usually in holosaprophytes there is a dwindling of root-hairs on roots (*see* Johow, cited on p. 213); it is otherwise with *absorbing-*

rhizomes, for in them there is an extensive development of hairs which function as absorbing-cells. In *Epipogum nutans* the rhizome-axis is smooth and does not absorb: it is covered by relatively large scale-leaves which take in the food, and for this purpose produce a great number of greatly elongated narrow hairs (compare *Dictyostegia orobanchoides*). On the other hand, in the green *Corysanthes* sp. the (2–3) subterranean scale-leaves are small and smooth and do not take in the food; but the axis bears numerous absorbing-hairs perched upon multicellular outgrowths. Similar outgrowths occur on the rhizome of *Corallorhiza innata*. *Epipogum aphyllum* contrasts with *Epipogum nutans* in that, in the former, the axis produces the absorbing hairs, and the transitory leaves are smooth.

Concerning the *absorbing-organs* of orchidaceous saprophytes, three features are noticeable:—(i.) that they *lie in the superficial layers of the substratum*; (ii.) that *their volume is increased relatively to the surface* (compared with typical roots of ordinary plants); (iii.) that the *absorbing-cells, including hairs, function for a long time*, and do not die speedily as do the root-hairs of normal terrestrial plants. The object of these arrangements is tolerably obvious. The humus-giving bodies are present in greatest quantity at the surface of the substratum and in the layers immediately below. Hence the absorbing-system will live in these upper layers. In addition, new supplies of food come constantly from above. Thus there is no need for the manufacture of new absorbing-organs to penetrate into and exhaust deeper regions of the soil; the old feebly-branched roots or rhizomes and the old absorbing-cells are all that are required, because the food comes to them.

Essentially connected with the absorbing-organs are the mycorhizal hyphæ, which are present in all known saprophytes (excepting *Wullschlægelia*, according to Johow). The function of mycorhiza is still a mystery. All that is known is that certain plants have on or in their roots mycorhizal hyphæ; that mycorhiza is absent from roots growing in soils devoid of humus; and that in the case of endotrophic mycorhiza the fungus does not kill the protoplasm of the cells in which it dwells. But these facts do not entitle us to assume that the fungus exerts a beneficial effect on its host; and Frank's observations (on Beeches and Conifers) are too meagre and uncritical to be considered as proving anything. Still the distribution of the hyphæ (9) in

holosaprophytes appears to confirm the theory that mycorhizal hyphæ exert a beneficial effect on the host, and that the fungus is not merely a passive companion. *The mycorhizal fungus makes its way into parts which are absorbing*, whether the latter be rhizomes or roots; further, it avoids the rhizome (including subterranean scale-leaves) if the latter does not absorb food, though the walls of the cells may be as thin or even thinner than those of the absorbing-organ. *Galeola javanica* and *Epipogum nutans* afford good examples of this. In *Galeola* the mycorhizal fungus penetrates the roots and small parts of the rhizome-axis which have hairs; but it does not live in the scale-leaves, although the cell-walls of the latter are very thin in places. In *Epipogum nutans* the fungus does penetrate the scale-leaves, and roots are absent. In *Galeola* the scale-leaves do not absorb food; in *Epipogum nutans* they are the only absorbing-organs possessed by the plant. Again, in *Corysanthes* hyphæ enter and live in the absorbing rhizome-axis, but not in the delicate scale-leaves. In *Aphyllorchis* and *Lecanorchis*, too, the roots, but not the subterranean scales, have mycorhizal mycelia. In particular *mycorhizal hyphæ appear to enter the plant only by cells which are specifically absorbing-cells.* In *Galeola javanica* they enter by any of the superficial cells; in *Epipogum nutans* only by the long hairs of the absorbing-scales; and more markedly in the rhizome of *Corysanthes* sp. only the hairs on the multicellular protuberances permit the entrance of hyphæ; and where these are absent, *i. e.* higher up the axis, no mycelia occur in the rhizome. Again, in the green *Spiranthes australis*, in my material, hyphæ entered only through the root-hairs, not by the ordinary cells of piliferous layer. Therefore it seems probable that the absorbing-cells exert some chemotropic power of attraction on the mycorhizal hyphæ.

One important point suggesting that the mycorhizal fungus exerts a beneficial effect on the host is that in *the cortical cells infected by mycorhizal mycelia the nuclei grow and become much more deeply-staining.* In fact, the nuclei of the cells infected with the hyphæ remind one of the hyperchromatic nuclei in certain vigorously absorbing-cells of animal tumours.

Finally, in confirmation of the view that the mycorhizal fungus is no passive companion, there is the fact that no reserve-foods are stored up in cortical cells which contain active mycelia. Thus in these infected cells no starch is present, even when it is

largely stored in the adjoining cells. But this fact might be interpreted in many different ways.

The next point in the histology of the absorbing-organs is the *large size of the cortex and the smallness of the central cylinder* (excepting *Epipogum nutans*). These organs have usually to act as food-reservoirs till the inflorescence-axis shoots up and the stock of food demanded. In the plants investigated there is a tendency for the outer layers of the cortex to entertain, throughout life, active mycorhizal mycelia and to form a distinct *exocortex* (roots of *Galeola*, *Aphyllorchis*, *Lecanorchis*, *Neottia* (according to Drude); rhizomes of *Epipogum aphyllum* and *Corallorhiza innata*). This layer is represented in *Epipogum nutans* by the adpressed scales coating the rhizome. In the young stages the active mycelia descend into the deeper layers of the cortex, and may even reach the endodermis. Usually these mycorhizal hyphæ which lie more deeply are soon converted into inert highly refractive masses. The cortical tissue within the exocortex is characterized by being a receptacle for the storage of food (starch); and it may be differentiated into a *mediocortex* and an *endocortex*, the latter of which is never penetrated by the mycorhizal fungus (*e. g.*, roots of *Galeola*, rhizomes of *Epipogum aphyllum*, *Corallorhiza innata*). Only in one case was there any indication of the solution of the dead mycelial masses, namely, in *Lecanorchis*. The *structure* of the *central cylinder* of the roots is normal, excepting that there is a tendency for the conducting constituents of the xylem to dwindle. In absorbing-rhizomes the central cylinder, even in *Corysanthes*, tends to become root-like in appearance, and the xylem is very reduced. We can possibly associate the reduction of the vessels with the fact that absorption takes place at all regions of the absorbing structure (not merely near the apex), and can compare this with the reduction in such epiphytes as *Aeranthus* and *Tillandsia usneoides*, or with submerged aquatic plants.

In *Epipogum nutans*, on the other hand, the cortex is small and devoid of mycorhizal hyphæ. The stele is large and the conducting elements of the xylem greatly developed.

Structure of rhizomes which do not absorb solutions.—As there appears to be no mechanism by which the roots rid themselves of the excess of water absorbed, and as the nutrient substances must be conveyed sooner or later into, or through, the rhizome, it seems *a priori* probable that most of water absorbed by all

the roots passes into the rhizome. This would lead us to anticipate that there would be a relative increase in the number of the conducting elements of the xylem in the rhizome. And such is the case. This goodly development of xylem does not occur in the absorbing-rhizome of *Corysanthes*, for the reason given above, and probably also because stomata permit the excess of water to be given off. The xylem of the tuber of *Epipogum nutans* is well developed because the tuber stores water instead of giving it off through stomata.

In *subterranean parts of the saprophytes investigated there appears to be a very distinct mechanism to enable the plant to rid itself of any excess of water.* In *Lecanorchis*, *Aphyllorchis*, and *Corysanthes* stomata occur on the subterranean axis and on the scales and are widely open (in alcohol specimens). In *Lecanorchis* there is, in addition, a hypodermal system of storage-tracheïdes in the scales. In *Galeola javanica* there are no stomata; but water can pass out through certain patches on the leaves when the epidermal walls are thin; under these patches there is an extensive hypodermal system of storage-tracheïdes.

It is quite possible that in the holosaprophytes the stomata have another function, *i. e.* of assisting in the interchange of gases involved in respiration.

Structure of the floral axis of Lecanorchis, Aphyllorchis, *and* Galeola.—The axis bears only a few and widely separate scales on its aerial part. Compared with the subterranean parts, the scales are fewer, smaller, and are not so long-lived. The axis is coated with an epidermis possessing thickly cuticularized outer walls; hence transpiration is slight. Many scapes of green orchids are very similar except for the thin green cortex, and are mainly conducting structures. So we shall not expect the structure of these axes to be very dissimilar to that of a green scape: in fact we find that it is not so. The only difference lies in the greater number of stomata and the larger intercellular spaces in the green cortex (*Spiranthes*). In the holosaprophytes there is the typical general sclerenchyma-sheath, ordinary collateral bundles with protoxylem in the form of spiral or annular vessels.

Epipogum nutans is as distinct in the structure of its floral axis as it is with regard to its rhizome. Its habitat—in marshy, moist, shaded regions—is reflected in its structure. Large intercellular spaces are in the ground-tissue and xylem. The conducting constituents of the xylem are narrow spiral or annular

vessels. There is no mechanical tissue, and the walls of all the cells are thin and unmodified cellulose (excepting xylem and feeble cuticle).

No stomata occur in *Epipogum nutans* or in *Galeola javanica*.

Vascular Bundles of Holosaprophytes.

Hitherto in holosaprophytic monocotyledons a normal complete vascular bundle has been described by Poulsen alone as occurring (in *Sciaphila*). Statements as to the simplicity of the bundles are contained in the works of Johow and Reinke. And, as far as I know, amongst dicotyledonous holosaprophytes, only F. W. Oliver (8) has given an account of a complete typical vascular bundle (in *Sarcodes*).

Yet in the holosaprophytic orchids on which I have worked there is in the vascular bundles *always a clear distinction into xylem and phloëm*. As regards the *xylem*, it is quite typical in the floral axis, but is more feebly developed in the roots, where no spiral or annular vessels occur. There appears to be a tendency to form tracheïdes with transverse narrow pits, in place of forming vessels with round pits or other modes of thickening. This is an interesting point, in that the wood thus *displays a structure more primitive in both an ontogenetic and a phylogenetic sense*. In all cases the *phloëm* is highly differentiated throughout the plant (except in the finer bundles of the scales), and possesses sieve-tubes, companion cells, and parenchyma. The general peculiarity is that the parenchyma is more developed, and the sieve-tubes are smaller and fewer than in a typical bundle. This, again, is a more primitive condition.

Degeneration in the Shoot.

As a saprophyte gives up its autotrophic mode of nutrition, it is the leaves which in particular lose their great importance as organs of nutrition. And we shall expect that they will display more complete phenomena of degeneration and change than any other parts of the plant. Such, in fact, is the case. The *leaves of holosaprophytes are reduced to mere simple scales.*

It has been noted by Darwin that when an organ is undergoing atrophy, it is liable to vary through much wider limits than is the case with an ordinary organ. If, then, considerable variation be of any assistance in hastening the evolution of an organ, we might anticipate that a degenerating organ would

rapidly and easily assume a new form and take on fresh functions. This anticipation holds, at any rate, for the shoots of holosaprophytes, and in particular for the leaves. This may be illustrated by a brief recapitulation of the *functions and structure of the subterranean scales* of the holosaprophytic orchids investigated and of *Corysanthes*.

(i.) *Absorbing-organs*.—Thin cell-walls, numerous long absorbing-hairs, no stomata, no vascular bundles, but have leaf-trace bundles: mycorhizal hyphæ present, e. g. *Epipogum nutans*.

(ii.) *Transpiring* or *Water-excreting Organs*.—No mycorhizal hyphæ: well cuticularized epidermis. Vascular bundles.

(α) Stomata: no hypodermal system of tracheïdes. *Aphyllorchis pallida*.

(β) Stomata: a small hypodermal system of tracheïdes. *Lecanorchis malaccensis*.

(γ) No stomata: thin-walled patches of epidermis: a large hypodermal system of tracheïdes. *Galeola javanica*.

(iii.) *Functionless*, or merely temporary, bud-protectors.

The lowest scale of *Corysanthes* has few stomata, no vascular bundle, and no leaf-trace goes towards it. The large scale higher up is larger, and has stomata and one vascular bundle. It is interesting to note that in *Corysanthes* the leaf-trace bundles and bundles within the scales have disappeared before the scales have been suppressed. This fact would seem to imply that leaves can entirely disappear in time without leaving any indications of their former presence; not only in flowers but also in vegetative parts.

Attention has already been directed to the histology of the vascular bundles of the shoot. It is, however, worthy of note that the plant which in the series investigated possesses the most reduced leaves and simplified vascular bundles is the hemisaprophyte *Corysanthes*. This suggests that it is not the lack of chlorophyll which is most potent in inducing the structural modifications in holosaprophytes, but that *it is the habit of absorbing organic material which initiates the morphological changes*: and one of these induced changes is the gradual disappearance of the chlorophyll. Amongst parasites the dwindling of the leaves is not necessarily associated with the loss of chlorophyll. There are a number of green parasitic genera in the Loranthaceæ and Santalaceæ which have species with normal foliage, and other species with tiny scales. The parasitic *Cassytha* has vivid green stems, but only minute scale-leaves. Many green autotrophic plants

exhibit the same regular atrophy of the leaves (*Asparagus*, *Ruscus*, *Muehlenbeckia*). The converse proposition, however, does hold that where the chlorophyll disappears the leaves are small and simple.

In conclusion, I take the opportunity of expressing my warmest thanks to Mr. H. N. Ridley and Professor A. F. W. Schimper for material they were good enough to give me; to Mr. A. H. Church (Oxford) for the drawings of the whole plants; and, finally, to Professor Vines for his kindness in permitting me to use the Botanical Laboratory at Oxford.

Botanic Gardens, Oxford, Dec. 1894.

Literature.

1. H. Schacht. Physiologische Botanik. 8vo. Berlin, 1852.
2. T. Irmisch. Beiträge zur Biologie und Morphologie der Orchideen. 4to. Leipzig, 1853.
3. E. Prillieux. De la structure anatomique et du mode de végétation du *Neottia Nidus-avis*. Ann. Sci. Nat. sér. 4, 1856, t. v. p. 267.
4. O. Drude. Die Biologie von *Monotropa Hypopitys* und *Neottia Nidus-avis*. 4to. Göttingen, 1873.
5. J. Reinke. "Zur Kenntniss des Rhizoms von *Corallorhiza* und *Epipogon*." Flora, 1873, pp. 145, 161, 177, 209.
6. F. Johow. "Die chlorophyllfreien Humusbewohner West-Indiens, biologisch-morphologisch dargestellt." Pringsheim's Jahrb. xvi. p. 445.
7. —— "Die chlorophyllfreien Humuspflanzen nach ihrer biologischen und anatomisch-entwickelungsgeschichtlichen Verhältnissen." Pringsheim's Jahrb. xx. p. 475.
8. V. Poulsen. "Bidrag til Triuridaceernes Naturhistorie." Videnskabelige Meddelelser fra Naturhistorisk Forening i Kjöbenhavn, 1884–1886, p. 161.
9. —— "*Triuris major* et Bidrag til Triuridaceernes Naturhistorie." Botanisk Tidsskrift, 1890, p. 293.
10. C. L. Blume. Orchides de l'Archipel Ind. et du Japon. Folio. Amsterdam, 1858.
11. F. W. Oliver. "On *Sarcodes sanguinea*." Annals of Botany, vol. iv. p. 303.
12. H. N. Ridley. "On the Flora of the Eastern Coast of the Malay Peninsula." Trans. Linn. Soc., 2nd series, Bot. vol. iii. 1893, p. 267.
13. A. B. Frank. 'Lehrbuch der Botanik,' where references to his papers are given.

EXPLANATION OF THE PLATES.

Abbreviations.

cx.=cortex. *endo.*=endodermis. *ep.*=epidermis. *u.ep.*=epidermis of the upper face of a leaf. *l.ep.*=epidermis of the lower face of a leaf. *ex.*=exodermis. *m.*=mucilage-cell. *mt.p.*=multicellular protuberance. *my.*=mycorhizal hyphæ. *my.m.*=mycelial mass. *my.p.*=mycelial pegs. *pc.*=pericycle. *pi.l.*=piliferous layer. *pl.*=placenta. *ph.*=phloëm. *p.ph.*=protophloëm. *ph.s.*=sieve-tube. *ph.s.c.*=callus on sieve-plate. *ps.*=passage-cell. *r.m.*=raphide-mucilage cell. *sc.*=sclerenchyma. *sh.*=sheath. *g.sh.*=general sheath. *b.sh.*=sheath round one bundle. *sp.*=spiral vessel. *su.l.*=outermost layer of cortex with suberized walls. *tr.*=tracheïde. *xy.*=xylem. *xy.an.*=annular vessel.

Plate IV.

Fig. 1. *Galeola javanica.* Transverse section of root, near the base, showing the outer layers. (Leitz 1. 7, reduced to $\frac{2}{3}$.)

2. Ditto. Transverse section of root, showing a single layer of sclerenchyma lying outside the endodermis and interrupted by passage-cells opposite the xylem; also shows two bundles of phloëm. (Leitz 1. 7, reduced to $\frac{1}{2}$.)
3. Ditto. Transverse section of a vascular bundle and part of the general sheath of the scape. (Zeiss 3. D, reduced to $\frac{1}{2}$.)
4. Ditto. Transverse section of part of a bract. (Zeiss 3. A.)
5. Ditto. Transverse section of part of a subterranean scale. (Zeiss 3. A.)
6. Ditto. Transverse section of part of placenta showing two mucilage-cells and portion of a third, also parenchyma devoid of starch. (Zeiss 1. D, reduced to $\frac{1}{3}$.)

Plate V.

Fig. 1. *Aphyllorchis pallida.* Transverse section of part of root, showing one bundle of xylem and two of phloëm. (Zeiss Apo. 8 mm., Comp. Oc. 8, reduced to $\frac{1}{2}$.)

2. Ditto. Transverse section of vascular bundle of scape. (Zeiss 3. D, reduced to $\frac{1}{3}$.)
3 *a*, *b*, *c*, *d*. Ditto. Surface-view of stomata of leaf. (Zeiss 3. D.)
4. Ditto. Transverse section of ovary-wall. Dots represent starch. (Zeiss 1. A.)
5. *Lecanorchis malaccensis.* Longitudinal section of outer portion of root. (Zeiss Apo. 8 mm., Comp. Oc. 8, reduced to $\frac{1}{3}$.)
6. Ditto. Transverse section of stele of root. (Zeiss Apo. 8 mm., Comp. Oc. 4, reduced to $\frac{1}{3}$.)
7. Ditto. Transverse section of an incompletely collateral bundle from base of scape. The arrow points radially outwards. (Zeiss 3. D, reduced to $\frac{1}{2}$.)

PLATE V. (*continued*).

Fig. 8. Ditto. Transverse section of part of scape, including one vascular bundle. (Zeiss 3. DD, reduced to $\frac{2}{3}$.)

9. *Epipogum nutans.* An absorbing hair with hyphæ, from subterranean scale-leaf. (Zeiss 2. DD, reduced to $\frac{1}{4}$.)

10. Ditto. Lobed end of an absorbing hair. (Zeiss 3. D, reduced to $\frac{1}{4}$.)

11. Ditto. Sieve-tubes, showing callus on sieve-plates. (Zeiss 3. DD, reduced to $\frac{1}{3}$.)

12. *Corysanthes.* Section of outer layers of tuber. (Zeiss, Apo. 16 mm., Comp. Oc. 8, reduced to $\frac{1}{3}$.)

PLATE VI.

Fig. 1. *Epipogum nutans.* Transverse section of tuber. (About natural size.)

2. Ditto. Longitudinal section through outer part of tube, showing the attachment of one hairy scale and the upper decaying end of another. The dots denote starch. (Highly magnified.)

3. Ditto. Transverse section of a vascular bundle of tuber. The dark patches in the phloëm denote callus on sieve-plates. (Zeiss 1. DD, reduced to $\frac{1}{2}$.)

4. Ditto. Transverse section of vascular bundle of scape. The arrow points radially inwards. (Highly magnified.)

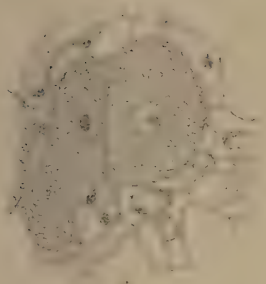
5. *Corysanthes.* Longitudinal section through top part of tuber (*tu.*) showing the base of the main flowering-axis (*m.a.*) and the attachment of a root-like process (*rh.p.*) or rhizome-branch. (Magnification about 2.)

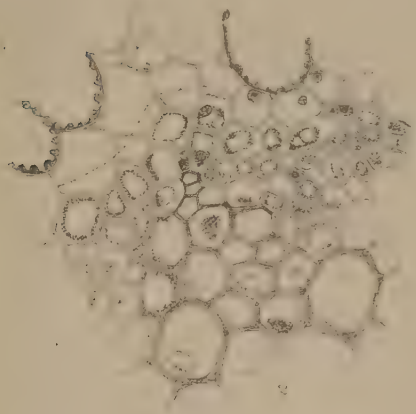
6. Ditto. A multicellular outgrowth from the base of the main flowering-axis. (Leitz O. 3.)

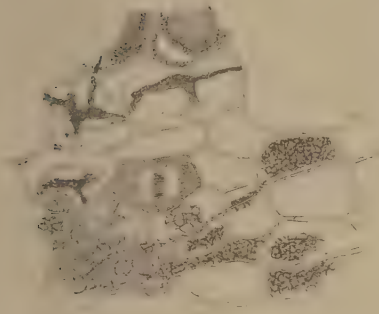
7. Ditto. Transverse section through the basal part of a multicellular outgrowth. (Zeiss 3. D.)

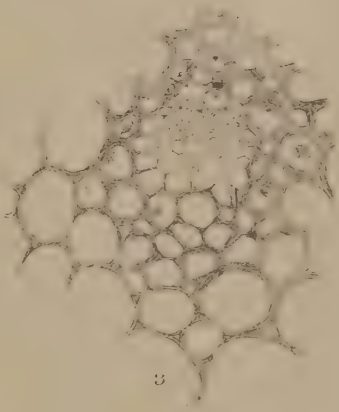
8. Ditto. Longitudinal section through the outer layers of the base of the main flowering-axis, showing mycorhizal mycelia and the base of a multicellular outgrowth. (Zeiss 2. DD, reduced to $\frac{1}{2}$.)

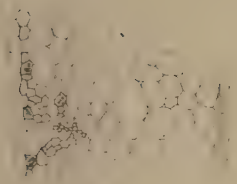
9. Ditto. Transverse section of stele of the main flowering-axis near its base. (Zeiss, Apo. 8 mm., Comp. Oc. 8, reduced to $\frac{1}{4}$.)

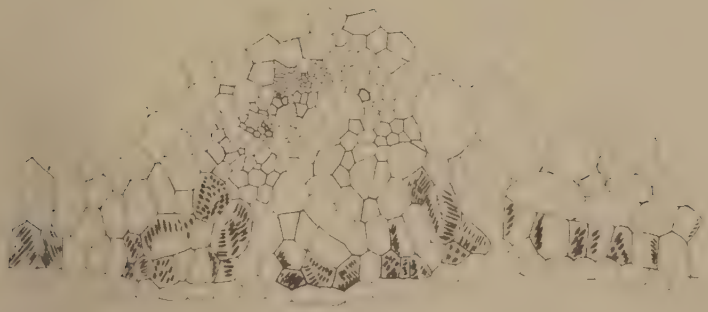






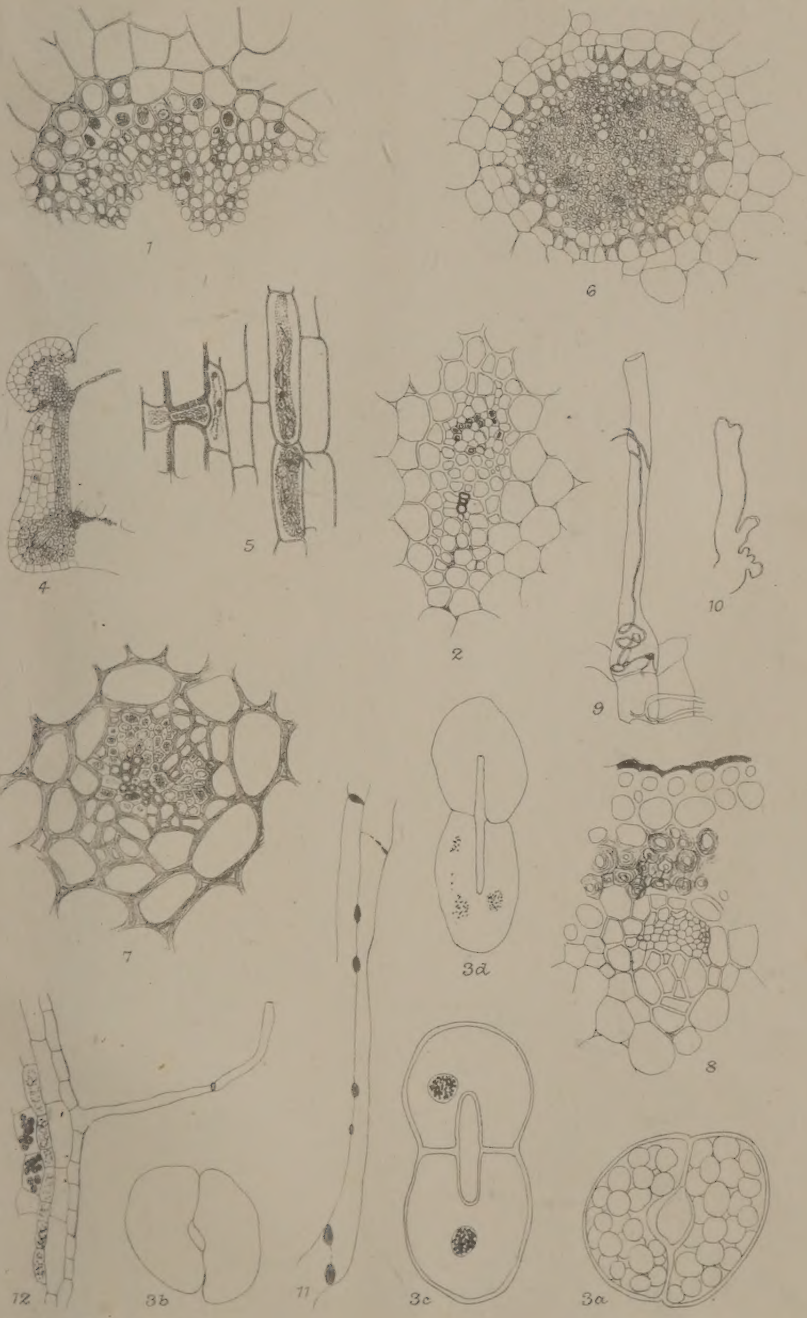






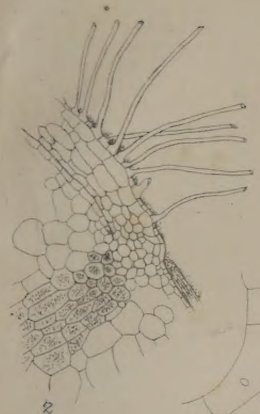
West, Newman imp.

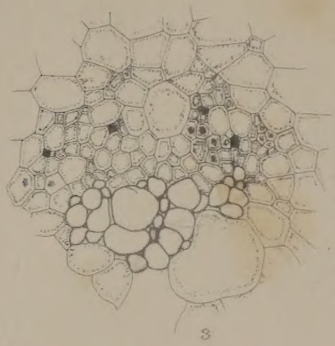
HISTOLOGY OF GALEOLA.



P.G. del. R. Morgan lith. West, Newman imp.

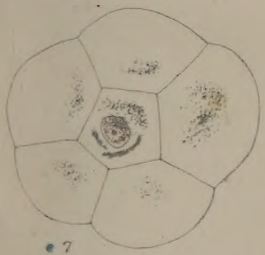
HISTOLOGY OF APHYLLORCHIS, LECANORCHIS, EPIPOGUM, AND CORYSANTHES.

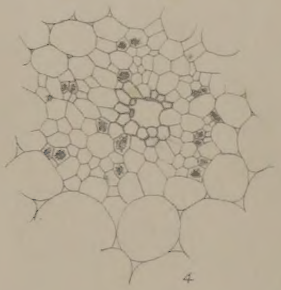

2


3

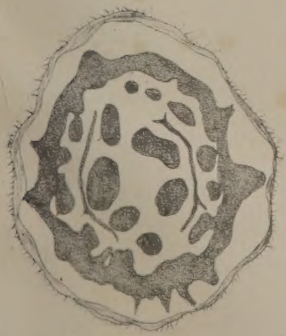
8

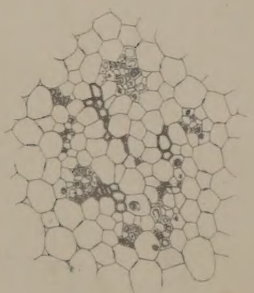
5


7


4

6


1


9

P.G. del
P. Morgan lith.

West, Newman imp

HISTOLOGY OF EPIPOGUM AND CORYSANTHES.